

N<sup>o</sup> D'ORDRE 1642

# THESES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

M. Francois-Xavier SKUPIEŃSKI

Licencié ès Sciences

(Né à Tum en Pologne)

1<sup>re</sup> THÈSE

# Recherches

## sur le cycle évolutif de certains Myxomycètes

## 2<sup>e</sup> THÈSE

### Propositions données par la Faculté

Soutenues le *Juin 1920* devant la Commission d'examen

*Président* : M. L. MATRUCHOT

*Examineurs* { MM. L. BERTRAND  
PORTIER

PARIS

IMPRIMERIE M. FLINIKOWSKI

216, BOULEVARD RASPAIL.

MCMXX







FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

---

SÉRIE A N° 843

N° D'ORDRE 1642

# THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

**M. François-Xavier SKUPIEŃSKI**

Licencié ès Sciences

(Né à Tum en Pologne)



---

1<sup>re</sup> THÈSE

**Recherches**  
**sur le cycle évolutif de certains Myxomycètes**

---

2<sup>e</sup> THÈSE

**Propositions données par la Faculté**

---

*Soutenues le     Juin 1920 devant la Commission d'examen*

---

*Président : M. L. MATRUCHOT*

*Examineurs* { *MM. L. BERTRAND*  
*PORTIER*

---

PARIS

IMPRIMERIE M. FLINIKOWSKI

216, BOULEVARD RASPAIL.

MCMXX

# FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

*Doyen.* . . . . . F. HOUSSAY, *Prof.* Zoologie.

*Profess. honoraires.* { P. PUISEUX.  
VELAIN  
BOUSSINESQ.

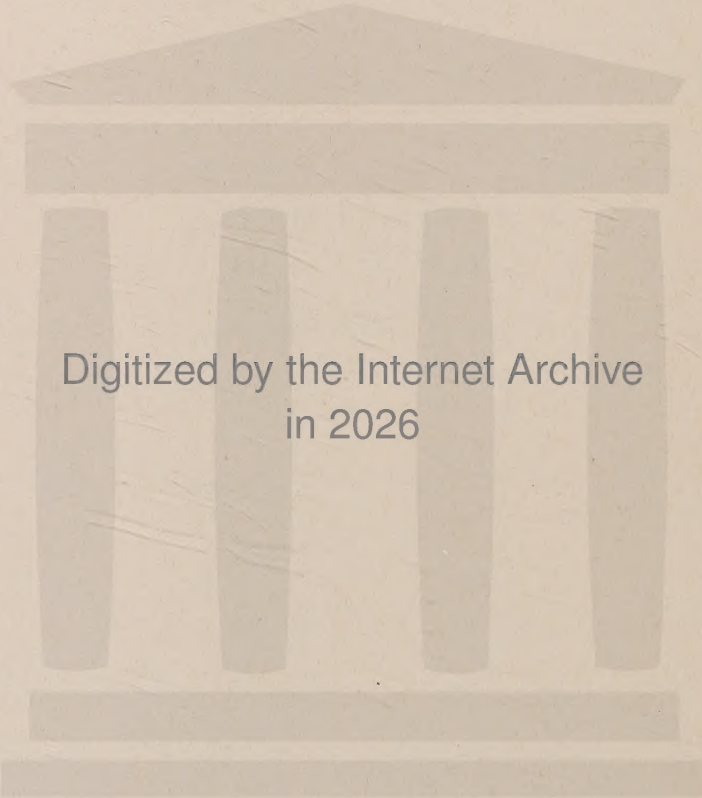
|                               |                                   |                                           |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------|
|                               | LIPPMANN. . . . .                 | Physique.                                 |
|                               | BOUTY. . . . .                    | Physique.                                 |
|                               | E. PICARD. . . . .                | Analyse supér. et algèbre supérieure.     |
|                               | Y. DELAGE. . . . .                | Zoologie, anatomie, physiologie comparée. |
|                               | GASTON BONNIER. . . . .           | Botanique.                                |
|                               | KENIGS. . . . .                   | Mécanique physique et expérimentale.      |
|                               | GOURSAT. . . . .                  | Calcul différentiel et calcul intégral.   |
|                               | HALLER. . . . .                   | Chimie organique.                         |
|                               | JOANNIS. . . . .                  | Chimie (Enseignement P. C. N.).           |
|                               | JANET. . . . .                    | Physique. —                               |
|                               | WALLERANT. . . . .                | Minéralogie.                              |
|                               | ANDOYER. . . . .                  | Astronomie.                               |
|                               | PAINLEVÉ. . . . .                 | Mécanique analytique et mécan. céleste.   |
|                               | HAUG. . . . .                     | Géologie.                                 |
|                               | H. LE CHATELIER. . . . .          | Chimie.                                   |
|                               | GAB. BERTRAND. . . . .            | Chimie biologique.                        |
|                               | M <sup>me</sup> P. CURIE. . . . . | Physique générale.                        |
| <i>Professeurs.</i> . . . . . | CAULLERY. . . . .                 | Zoologie (Evolution des êtres organisés). |
|                               | C. CHABRIÉ. . . . .               | Chimie appliquée.                         |
|                               | G. URBAIN. . . . .                | Chimie.                                   |
|                               | EMILE BOREL. . . . .              | Phys. mathém. et Calcul des probabilités. |
|                               | MARCHIS. . . . .                  | Aviation.                                 |
|                               | JEAN PERRIN. . . . .              | Chimie physique.                          |
|                               | G. PRUVOT. . . . .                | Zoologie, anatomie, physiol. comparée.    |
|                               | MATRUCHOT. . . . .                | Botanique.                                |
|                               | ABRAHAM. . . . .                  | Physique.                                 |
|                               | CARTAN. . . . .                   | Mécanique rationnelle.                    |
|                               | CL. GUICHARD. . . . .             | Géométrie supérieure.                     |
|                               | MOLLIARD. . . . .                 | Physiologie végétale.                     |
|                               | LEBESGUE. . . . .                 | Application de l'analyse à la géométrie.  |
|                               | LAPICQUE. . . . .                 | Physiologie.                              |
|                               | GENTIL. . . . .                   | Géographie physique.                      |
|                               | VESSIOT. . . . .                  | Calcul différentiel et calcul intégral.   |
|                               | COTTON. . . . .                   | Physique théorique et physique céleste.   |
|                               | N. . . . .                        | Histologie.                               |
|                               | N. . . . .                        | Mathématiques générales.                  |

|                                |                        |                                           |
|--------------------------------|------------------------|-------------------------------------------|
|                                | DEDUC. . . . .         | Physique.                                 |
|                                | HÉROUARD. . . . .      | Zoologie.                                 |
|                                | LÉON BERTRAND. . . . . | Géologie.                                 |
|                                | RÉMY PERRIER. . . . .  | Zoologie (Enseignement P. C. N.).         |
|                                | LESPIEAU. . . . .      | Chimie.                                   |
| <i>Professeurs-adjoints.</i> { | SAGNAC. . . . .        | Physique (Enseignement P. C. N.).         |
|                                | PEREZ. . . . .         | Zoologie (Evolution des êtres organisés). |
|                                | RABAUD. . . . .        | Biologie générale.                        |
|                                | PORTIER. . . . .       | Physiologie.                              |
|                                | BLAISE. . . . .        | Chimie organique.                         |
|                                | PÉCHARD. . . . .       | Chimie (P. C. N.).                        |

*Secrétaire* . . . . . D. TOMBECK.

A MON CHER MAITRE  
M. L. MATRUCHOT

Professeur à la Sorbonne  
et à l'Ecole Normale Supérieure



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41552820\\_0024](https://archive.org/details/IA41552820_0024)

# RECHERCHES

## sur le cycle évolutif de certains Myxomycètes

---

### INTRODUCTION

---

Les Myxomycètes constituent l'un des groupes les plus intéressants du règne végétal au point de vue biologique ; mais s'il existe un nombre considérable de travaux concernant la classification des Myxomycètes, ceux qui concernent la biologie et la physiologie sont très peu nombreux. On peut expliquer cela par les difficultés, parfois insurmontables, auxquelles se heurte l'expérimentateur qui cherche à élucider un point obscur. Le temps et la patience sont deux facteurs indispensables pour une heureuse issue du travail entrepris. Si on considère les résultats de différents auteurs sur la même question, on s'aperçoit que leurs conclusions ne concordent pas toujours. Il ne faut pas s'en étonner. Tous les auteurs n'ont pas travaillé dans des conditions exactement pareilles. Or une même espèce peut subir différentes variations au cours de son évolution : un changement brusque de température, la présence d'une certaine Bactérie, la densité de la solution nutritive, etc., etc., peuvent imprimer à une forme végétative un caractère qui la rendra différente de la même espèce développée dans d'autres conditions. Pour pouvoir tirer des conclusions justes de nos observations, il faut que nous soyons précisément au courant de tous les besoins indispensables d'une forme en évolution, il faut que nous en connaissions tous les « caprices » *et pour cela il faut un temps considérable*. Précisément, dans notre travail, les conclusions générales sont basées sur la juxtaposition d'observations faites pendant cinq années.

Nos recherches portent sur trois espèces différentes, représentant les trois grands types de Myxomycètes : *Didy-*

*mium nigripes* (Endosporées); *Dictyostelium mucoroides* (Acrasiées); *Ceratiomyxa fruticulosa* (Exosporées).

Le nombre restreint d'individus qui nous ont servi dans notre travail s'explique par l'impossibilité de trouver d'autres espèces qui se laissent cultiver dans des conditions artificielles. Les *Dictyostelium mucoroides* et *Didymium nigripes* sont deux espèces qui se laissent reproduire facilement sur les milieux artificiels du laboratoire (gélose, bois pourri, foin, tranches de carotte, etc.); fournissant plusieurs générations par an, ils constituent un matériel facile et inépuisable pour les recherches.

Dans le premier chapitre de notre travail nous parlerons du développement des Myxomycètes en général et de l'action du milieu sur ces champignons; dans le second chapitre nous décrirons les phénomènes sexuels que nous avons observés au cours de nos études.

C'est au laboratoire de Botanique de l'École Normale Supérieure que nous avons pu poursuivre ces recherches. Nous adressons nos plus vifs remerciements et l'expression de notre profonde reconnaissance à notre excellent Maître M. le Professeur Matruchot, qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et nous a prodigué ses conseils et toutes les marques de sa bienveillance.

Nous adressons également l'expression de notre vive gratitude à notre vénéré Maître, M. le Professeur Bonnier, qui a également facilité nos recherches.

M. le Docteur Pinoy, de l'Institut Pasteur, a bien voulu nous donner de bons conseils au cours de nos recherches et nous a témoigné, à plusieurs reprises, sa sympathie. Nous lui exprimons nos meilleurs remerciements.

---

## CHAPITRE PREMIER

### Le développement des *Myxomycètes* et l'action du milieu sur ces organismes

#### A. — HISTORIQUE

Ce sont surtout les *Myxomycètes* Endosporés qui ont servi aux différents auteurs comme objet d'observation et de recherche.

Cienkowski, de Bary, Rostafinski, Strasburger, Brefeld, Van Tieghem, doivent être considérés comme les principaux auteurs des notions fondamentales sur les *Myxomycètes*. Leurs travaux essentiels portent surtout sur la morphologie, le développement et la classification des différents groupes. Le manque d'instruments perfectionnés et surtout l'insuffisance des procédés techniques de coloration ne leur ont pas permis d'approfondir quantité de points obscurs. Les résultats de leurs recherches sont déjà fort importants, mais ne peuvent être comparés avec les résultats des investigations des auteurs modernes.

Parmi ceux-ci, citons surtout Lister, Jahn, Pinoy, Harper, Olive, Potts. Leurs travaux concernent surtout le côté biologique de l'histoire des *Myxomycètes*.

Après tant d'autres mycologues du XVIII<sup>e</sup> siècle, qui n'avaient pas nettement distingué les *Myxomycètes* des autres groupes de champignons, Schrader [52 bis] (1) est le seul auteur, avant le génial de Bary, qui ait jeté un peu de lumière sur le développement des *Myxomycètes*. C'est lui, le premier, qui a dit, en 1797, que les *Myxomycètes* n'ont rien de commun avec les champignons : « *Agaricivero... et plurimae affines sub fungorum ordine comprehensae stirpes, superficiae externa fructificante, germinatione (!) substantia acque ac habitu adeo distinguntur, ut neque in artificiali, neque in naturali plantarum divisione, simul cum prioribus sub uno ordine vel familia comprehendi possint* ». Cet auteur déclare de plus qu'il n'a pas trouvé, après un examen minutieux des *Myxomycètes*, quelque chose qui pût rappeler les éléments sexuels.

En 1821, paraît le travail de E. FRIES [20 bis], considéré comme le fondateur de la Mycologie moderne. Mais, en ce qui concerne les *Myxomycètes*, cet auteur s'occupe exclusivement de la classification et de l'étude morphologique du groupe.

---

(1) Les chiffres entre crochets renvoient à l'Index bibliographique, page 79.

Après Schrader et Fries, beaucoup d'autres se consacrent à l'étude des Myxomycètes. Mais leurs recherches concernent exclusivement la morphologie et la classification des nouvelles espèces. Nous ne rencontrons aucun travail consacré à l'étude biologique de ce groupe.

C'est seulement avec DE BARY [1] que commence une nouvelle ère pour la myxologie. Cet auteur trace de l'évolution du Myxomycète des lignes générales qui sont devenues la base pour toutes les études des auteurs qui ont succédé.

Il développera ses premières observations dans un second travail intitulé : « Bau und Entwicklung der Myxomyceten, in Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten (1864).

De Bary a étudié plusieurs espèces de Myxomycètes : *Physarum*, *Aethalium*, *Leocarpus*, *Didymium*, *Stemonitis*, *Trichia*, *Licea*, *Reticularia* et *Lycogala*.

Une spore mise dans une goutte d'eau se gonfle, des vacuoles apparaissent (habituellement 2). A l'intérieur de la masse protoplasmique on observe des mouvements de rotation ; cette masse protoplasmique sort ensuite de l'enveloppe cellulosique. Elle est tout d'abord immobile et sphérique, mais peu à peu elle change de forme, pousse un cil à une extrémité et devient zoospore. La partie postérieure de la zoospore est granuleuse et vacuolaire ; à la partie antérieure, où se trouve toujours le noyau, le protoplasme n'est pas granuleux. Une zoospore ne possède pas de membrane proprement dite, mais une enveloppe aqueuse, indistincte de la masse protoplasmique.

La zoospore, une fois formée, change de place, en exécutant deux sortes de mouvements : mouvements rampants et mouvements rotatoires, ces derniers à l'aide de son cil vibratile. Les zoospores se multiplient par division ; un peu avant, le mouvement s'est ralenti, le cil vibratile a disparu, les vacuoles aussi, la zoospore a pris une forme complètement sphérique. Cette sphère se divise alors en deux parties égales dont chacune acquiert la qualité d'une zoospore après quelques minutes de repos.

De Bary observe chez *Didymium libertianum* et chez *Didymium precox* la première division de la masse protoplasmique avant qu'elle sorte de la spore, de telle sorte qu'une spore en germant donne directement deux zoospores complètement organisées. Il a observé les mouvements du protoplasme dans les zoospores et les a comparés aux mouvements protoplasmiques du plasmode. Le troisième jour après l'ensemencement, les divisions des zoospores sont plus rares. Celles-ci perdent définitivement leurs cils vibratiles, leur volume augmente considérablement et le

protoplasme devient très granuleux. Ce sont des *myxamibes* typiques. Après cette transformation des zoospores en myxamibes, celles-ci se groupent par plusieurs, se fusionnent en une seule masse que de Bary appelle, après Cienkowski, le *plasmodium* (1). De nouvelles myxamibes rencontrées par le plasmode en marche s'attachent à ce dernier et se fusionnent avec lui.

De Bary admet que les zoospores, myxamibes et plasmodes, tirent leur nourriture des substances dissoutes dans le liquide où ils vivent.

Le plasmode est toujours coloré. La matière colorante est associée exclusivement aux corpuscules de  $\text{CaCO}_3$  : ou bien elle constitue l'enveloppe de ces corpuscules, ou bien elle est constituée elle-même de petits corpuscules mélangés avec les corpuscules de  $\text{CaCO}_3$ .

Un plasmode peut se morceler en plusieurs petits plasmodes et, inversement, plusieurs petits plasmodes peuvent se fusionner en un seul grand. Mais les plasmodes de différentes espèces ne se fusionnent pas entre eux. Un plasmode nouvellement formé peut évoluer et augmenter sans fusion avec d'autres myxamibes, ni avec d'autres plasmodes qu'il rencontre sur son chemin. Quand le moment de la fructification approche, le plasmode se débarrasse de ses pigments et des corpuscules de  $\text{CaCO}_3$  et il ne reste que le protoplasme appelé par de Bary *protoplasme de germination*. Une petite quantité de protoplasme de germination se transforme en capillitium et la plus grande partie en spores. Le capillitium peut se former en même temps et avant même la formation des spores.

Un Myxomycète en voie de développement peut prendre l'état de repos sous trois formes : les *microcystes*, les *cystes* et les *sclérotés*. Mais ces trois états ne sont pas obligatoires au cours du développement ; ils sont passagers et sont causés par le changement du milieu ambiant : nourriture insuffisante, trop grande humidité, inconstance de la température et autres causes mal connues. Les microcystes sont des zoospores au repos. Elles peuvent rester à l'état sec pendant plusieurs mois ; mises dans l'eau, elles sont capables de reprendre leur vie active. Cystes et sclérotés sont des plasmodes à l'état de repos. Dans *Licea pannorum*, par exemple, le plasmode se divise en plusieurs masses enveloppées chacune d'une double membrane. Ces sclérotés peuvent conserver leur vitalité pendant plusieurs années. De Bary

---

(1) C'est Cienkowski, le premier, qui a donné à la masse provenant de la fusion de plusieurs myxamibes le nom de plasmode.

Dans son premier travail, de Bary dénomme le plasmode « sarcode ».

affirme qu'il y a des Myxomycètes dont les sclérotés peuvent donner des plasmodes après vingt ans de repos dans un endroit sec. Cet auteur rapporte une observation très curieuse : les spores semées sur une lame ne donnent ni zoospores ni plasmodes ; elles donnent seulement de grandes myxamibes qui rappellent des Amibes (*Amœba guttula* par exemple), et restent sans changement.

Quatre ans après la publication du premier travail de de Bary, Cienkowski publie à son tour deux travaux : *Zur Entwickelungs geschichte der Myxomyceten* et *Das Plasmodium* [10]. Il rectifie seulement et éclaircit certains points obscurs du travail de de Bary. Il a observé la conjugaison des zoospores et celle des myxamibes, leur fusion et la formation des masses protoplasmiques mobiles qu'il dénomme « Plasmodium ». Il a remarqué aussi que les zoospores, se trouvant dans des conditions défavorables, peuvent s'enkyster en donnant des microcystes.

Les plasmodes appartenant à deux espèces différentes ne se fusionnent jamais.

Cienkowski essaie de prouver ensuite que les plasmodes ne possèdent pas la membrane décrite par de Bary et sont composés de deux substances : une incolore, très dense, capable de se rétrécir, et l'autre fluïdo-granuleuse.

De Bary, dans son second travail, critique ce point de vue de Cienkowski et déclare que la masse du plasmode est composée d'une substance protoplasmique, possédant seulement différentes forces d'attraction et de mobilité en ses différents points.

ROSTAFINSKI, dans une monographie intitulée : *Mycetozoa* (Sluzowce) éditée à Paris en 1875 [51], pose une pierre angulaire de la nomenclature des Myxomycètes [39 bis].

Il existait déjà un grand nombre d'intéressants ouvrages et de monographies dus à plusieurs mycologues éminents (Fries, de Bary, Cienkowski), mais il n'y avait pas, parmi eux, d'ouvrage complet, qui, à côté de notions biologiques, présentât une classification raisonnée du groupe des Myxomycètes. L'ouvrage de Rostafinski est une clef pour la reconnaissance des différents Myxomycètes ; il ne s'occupe pas de la biologie de ces êtres, ni de leur cytologie.

Avec les observations de G. LISTER nous entrons dans une nouvelle phase de l'histoire des Myxomycètes.

Ni de Bary, ni Cienkowski, ni Brefeld, ni Rostafinski ne disent rien au sujet du noyau et de son rôle dans le développement des Myxomycètes.

Vau Tieghem [58] dit même, comme nous le verrons plus loin, que les myxamibes de *Dictyostelium* naissent sans noyau, mais il

s'agit évidemment de noyau visible par examen direct sur le vivant.

Pour Lister, les spores germent par suite d'un phénomène d'osmose : la masse protoplasmique se gonfle par la pénétration de l'eau, brise la paroi cellulosique de la spore, sort lentement et se place à côté de l'ouverture. Cette masse se transforme ensuite, par acquisition d'un cil vibratile, en zoospore. Le noyau est toujours placé dans la partie antérieure, c'est-à-dire du côté où naît le cil, avec lequel il est en connection par l'intermédiaire d'un tract délicat qui se colore moins que le reste du protoplasme. Les zoospores se transforment ensuite en myxamibes, qui émettent deux pseudopodes. Les Bactéries présentes dans le milieu nutritif sont saisies par les pseudopodes, introduites à l'intérieur de la masse protoplasmique, et digérées dans les vacuoles. Quand les Bactéries sont trop nombreuses, les pseudopodes cessent de fonctionner et la myxamibe s'arrondit; mais après une ou deux heures, quand les Bactéries accumulées à l'intérieur de la myxamibe sont digérées, celle-ci reprend la vie normale.

La bipartition des zoospores commence cinq heures après la germination et elle continue pendant trois à quatre jours. Avant chaque bipartition, le cil vibratile est résorbé et la masse protoplasmique prend la forme sphérique. *Le noyau se divise carryocinétiquement*; le corps protoplasmique devient ellipsoïdal, puis il se scinde au milieu en deux parties. Lister a observé la formation de deux plaques équatoriales et de fibres achromatiques. Les noyaux-fils se rendent finalement aux deux pôles opposés de la masse protoplasmique, laquelle, en un laps de temps de quinze minutes à une heure, se trouve divisée. Le cil vibratile ne tarde pas à apparaître sur chaque zoospore-fille.

D'après Lister, les myxamibes dérivent toujours des zoospores; elles se multiplient, puis se fusionnent plusieurs entre elles et forment ainsi ce que Cienkowski dénomme un plasmode. De jeunes plasmodes exercent une influence attractive sur les myxamibes voisines. Par suite de cette fusion, les myxamibes perdent leur individualité, mais les noyaux restent distincts. « Quel que soit le sens, sexuel ou non, de cette fusion des myxamibes, dit Lister, *la fusion des noyaux, qui est la marque essentielle du phénomène sexuel, n'a pas été observée jusqu'à présent* ».

La nourriture des plasmodes est variable. Ceux qui vivent sur le bois pourri sont bruns par suite de l'incorporation de la matière pourrie, qui sera rejetée avant la formation des sporanges. Lister explique précisément le changement de couleur du plasmode qui se transforme en sporange par le rejet de ces particules

étrangères (1). « En général, dit Lister, la question de l'alimentation est très obscure. *Badhamia utricularis* est l'unique espèce qui vit sur les champignons vivants. Il peut être cultivé indéfiniment sur *Stereum hirsutum* et sur espèces voisines, et on peut observer au microscope la dissolution des hyphes de l'hôte. La croissance de cette espèce est très rapide ; un plasmode mesurant environ un pouce carré et vivant sur le chapeau d'*Auricularia mesenterica*, augmente de plus de six pouces dans une durée de vingt heures. »

*Les noyaux du plasmode se divisent par carvocrinèse dans certaines conditions, mais ces conditions restent jusqu'à présent inexploquées.* Le processus est très rapide, il dure environ un quart d'heure.

Mais la division caryocinétique n'est pas le seul processus, Lister admet la division directe des noyaux.

Les plasmodes peuvent passer à l'état de sclérotés par une simple exposition à l'air sec. Mais la cause de la formation des sclérotés est parfois difficile à découvrir. Les sclérotés conservent pendant longtemps leur vitalité et peuvent redevenir plasmode, même au bout de 3 ans, quand ils sont placés dans des conditions convenables.

Les plasmodes en fructification donnent ou des formes symétriques (sporangies) avec ou sans pédicelle, ou des formes asymétriques s'étendant irrégulièrement sur le substratum et auxquelles il donne le nom de *plasmodiocarpes*. Lister cite *Physarum nutans* et *Didymium squamulosum* comme exemples de différentes variations.

La paroi du sporangie est sécrétée par le protoplasme de la surface. Elle est tout d'abord gélatineuse, puis membraneuse. Simultanément le système de ramifications capillitiales est sécrété à l'intérieur par la masse protoplasmique du nouveau sporangie. La partie basale du jeune sporangie se contracte et forme le pied ; ce pied consiste en un tube formé d'une matière molle et hyaline en continuité avec la paroi du sporangie ; c'est à travers le pied que le protoplasme afflue jusqu'à ce que les veines du plasmode aient complètement vidé leur contenu protoplasmique qui est utilisé pour former la tête du sporangie. Les granules de  $\text{CaCO}_3$  sont dissous et le sel en solution passe lentement à travers la paroi et forme les cristaux à la surface du sporangie. Dans différentes espèces de Myxomycètes, le capillitium se forme avant les spores.

---

(1) Mais, observerons-nous en passant, pourquoi les plasmodes de différentes espèces de Myxomycètes ont-ils une couleur différente sur le même morceau de bois pourri ?

La formation de celles-ci est précédée par une division caryociné-  
tique des noyaux.

Dans plusieurs espèces (*Badhamia*, *Physarum*, *Craterium*, *Didymium*, *Stemonitis* *Lamproderma*, etc.), dit Lister, quand le stade de fuseaux nucléaires est atteint, la masse protoplasmique se sépare en plusieurs, dont chacune renferme 6 à 10 noyaux. Ces masses se subdivisant à leur tour en masses plus petites, dont chacune possède environ le volume de deux spores et renferme 2 noyaux résultant d'une division.

Chacune de ces petites masses à deux noyaux se divisera encore une fois et chaque partie emportera un noyau. La paroi de la spore se forme ensuite et l'évolution complète est terminée.

Chez d'autres espèces, comme par exemple *Arcyria*, *Lycogala*, *Reticularia*, et *Trichia*, le plasmode ne se sépare pas en lobes au moment de la formation des fuseaux caryocinétiques, la division donne des noyaux bien séparés dont chacun deviendra le centre individuel d'une spore.

Sur les Myxomycètes exosporés, Lister donne les notions suivantes; Une spore de *Ceratiomyxa* possède 4 noyaux. Les spores, quand elles sont mises dans l'eau pure, sont animées de mouvements saccadés. (1) Elles germent au bout de quelques heures en donnant chacune une myxamibe; celle-ci se divise en quatre parties, dont chacune emporte un noyau; les noyaux se divisent par caryocinèse et entraînent la division des masses protoplasmiques. Il résulte donc de cette double division de la masse protoplasmique mère huit myxamibes-filles. Habituellement, ces huit myxamibes sont réunies par de minces trabécules ou ponts. Au bout de 5 minutes, chaque myxamibe-fille acquiert un cil vibratile et devient une zoospore. Cette colonie de 8 zoospores nage à l'aide de 8 cils vibratiles. Peu après, les zoospores se séparent et, à ce stade, ressemblent beaucoup aux zoospores des Endosporés. Ces zoospores deviendront plus tard des myxamibes.

Le plasmode des Exosporés présente les mêmes caractères que le plasmode des Endosporés : l'existence de veines dans lesquelles on peut observer les mouvements alternatifs de la masse granuleuse. Ces veines, avant la fructification, formeront des réseaux fermés. Les noyaux se divisent pendant ce temps-là caryocinétiquement. Ensuite les réseaux protoplasmiques se transforment en couche continue qui, ensuite, se divise en portions polyédriques ou cellules, d'égales dimensions, dont chacune reçoit un seul noyau. Chacune de ces portions deviendra plus tard une

---

(1) Pour nous, ce sont des Bactéries mobiles qui déplacent les spores, et le fait est facile à observer.

spore et le noyau primitif se divisera deux fois pour donner les 4 noyaux définitifs que contient une spore mûre.

VAN TIEGHEM, en 1880, dans une note présentée à la Société botanique de France [58] s'occupe du développement des *Dictyostéliacées* en général. Il les a cultivées sur de la levure de bière étalée en couche pâteuse.

A propos de la germination des spores de *Dictyostelium*, Van Tieghem dit que la membrane d'une spore mise dans l'eau se déchire en un point et il s'échappe un corps protoplasmique *dépourvu de noyau*. Les myxamibes se divisent chacune en deux par un étranglement. La bipartition se répète. Le nombre de myxamibes grandit. Finalement, les myxamibes se rapprochent, s'appliquent intimement les unes contre les autres pour former un petit massif cellulaire dont les éléments demeurent complètement indépendants et capables de glisser les uns sur les autres. Par suite de ce glissement, chaque massif se dresse aussitôt perpendiculairement à la goutte et forme, dans l'air, un cône qui s'allonge peu à peu en s'amincissant. Il se forme un axe solide le long duquel les cellules externes s'élèvent en glissant, viennent se superposer à lui et les unes aux autres, prennent une forme sphérique, se revêtent d'une membrane de cellulose et forment définitivement dans le genre *Acrasis*, un chapelet de spores plus ou moins long.

« Chaque myxamibe, continue Van Tieghem, quand la croissance a pris fin, entre donc directement et tel quel dans la constitution du fruit, où, suivant la place qu'il occupe, il devient soit une spore, soit une cellule du pied ».

« Tel est le développement normal de la plante quand les conditions sont et demeurent favorables ».

« Si, au cours de la période de croissance et de bipartition, les circonstances deviennent défavorables, les myxamibes s'enkystent. Sans insister sur ce point, je signalerai un mode d'enkystement tout particulier, que j'ai observé aussi dans les *Dictyostelium mucoroides* et *roseum*. Le myxamibe pousse un bras qui s'arrondit, s'étrangle à la base, se revêt d'une membrane et enfin se détache. Cette sorte de bourgeonnement s'opère à la fois en plusieurs points et se reproduit ensuite jusqu'à ce que toute la substance du myxamibe se soit ainsi morcelée en petits bourgeons enkystés. »

Plus loin, Van Tieghem dit : « Une fois terminée la phase de croissance et de bipartition, des myxamibes du *D. roseum* se rassemblent pour former le fruit. Ils s'agrègent intimement, après avoir perdu leurs noyaux, mais ne se fusionnent pas. Au fur et à mesure que le massif se constitue et qu'il augmente

« de volume par adjonction de nouveaux myxamibes, il se dresse  
« dans l'air en forme de cône, il s'y élève peu à peu parce que les  
« petits corps protoplasmiques montent en glissant les uns sur les  
« autres le long de ses flancs, et finalement il devient le fruit, avec  
« son pied celluleux et sa masse de spores enveloppées dans une  
« matière gélatineuse. Chaque cellule du pied provient donc direc-  
« tement d'un myxamibe. Chaque spore, avec la petite quantité  
« de matière gélatineuse qui l'entoure et la relie aux autres, pro-  
« vient aussi directement d'un myxamibe dont la substance a  
« subi une différenciation interne ».

BREFELD, quatre ans plus tard, en 1884, dans un article intitulé :  
« *Polysphondylium violaceum* und *Dictrostelium mucoroides* [6]  
décrit d'une façon détaillée le développement de ces deux espèces  
de Myxomycètes Acrasiés. Brefeld avait déjà publié, en 1869, un  
premier travail intitulé : « *Dictrostelium mucoroides*, ein neuer  
organismus aus der Verwandtschaft der Myxomyceten », travail  
surtout systématique, dans lequel il avait cependant reconnu  
avant la fructification, la fusion des myxamibes en une seule  
masse homogène, assimilable avec le plasmode des Endosporés.

Dans ce nouveau travail de 1884, Brefeld met en évidence des  
faits nouveaux. Les spores en germent donnent de petites myxa-  
mibes munies chacune d'une vacuole et d'un seul noyau, et qui  
émettent des pseudopodes. Elles se nourrissent exclusivement de  
matières dissoutes dans le milieu sur lequel elles poussent. Elles  
peuvent saisir certaines particules solides avec leurs pseudopodes  
mais les rejettent immédiatement au dehors.

Ces myxamibes ne tardent pas à grandir considérablement et  
à se diviser. Mais Brefeld ne dit rien sur le rôle du noyau dans  
cette division. Sur aucune de ses figures, cependant, si bien faites,  
il ne représente le noyau. Les myxamibes se divisent par un  
simple étranglement. Avant chaque division la myxamibe prend  
une forme arrondie et Brefeld suppose que le noyau y subit une  
division directe, suivie d'un étranglement de la masse protoplas-  
mique.

Après plusieurs divisions, les myxamibes se réunissent dans un  
endroit sec pour former une masse agrégée ou pseudoplasmode  
qui se transformera en sporange. Brefeld a observé la formation  
de ces masses pseudoplasmodiques : il y a tout d'abord une masse  
centrale vers laquelle convergent des ramifications disposées  
régulièrement. Les myxamibes de ces ramifications sont accolées  
l'une contre l'autre mais pas fusionnées.

Mais vers le centre les amibes réunies passent en une sorte de  
masse coulante comme dans des canaux. Peu à peu les bras laté-  
raux disparaissent en se noyant dans la masse centrale, qui se

soulève progressivement en forme de cône. Cette masse centrale paraît si homogène qu'il faut admettre que les myxamibes qui la constituent se sont fusionnées; en plus les rayons convergeant vers le centre d'une formation plus avancée, paraissent former aussi une masse homogène en forme de canaux à travers lesquels coule la masse protoplasmique granuleuse.

Vers le centre la masse devient homogène et ressemble au plasmode d'autres Myxomycètes. En réalité les myxamibes qui composent le pseudoplasmode, gardent toujours leur individualité, malgré leur apparente fusion. Brefeld a observé que les pieds de futurs sporanges commencent leur formation avant qu'il puisse remarquer la fusion des myxamibes en plasmodes.

Quand les fondations du pied sont faites, les autres myxamibes qui sont en haut du cône se transforment seulement en cellules du pied.

La masse de myxamibes qui n'ont pas été utilisées pour la formation du pied se transforme en spores.

D'où provient l'eau qui provoque le gonflement des myxamibes ?

Les éléments d'en bas la prennent dans le milieu ambiant. Les éléments d'en haut peuvent prendre l'eau des autres amibes, dans la colonne qui deviendra le futur sporange. Brefeld observe dans chaque cellule du pied que la paroi est tapissée par le protoplasme, et il a vu les noyaux. Chaque cellule est remplie d'une vacuole de suc cellulaire. Les spores sont réunies par une masse liquide; elles restent libres; il n'y a jamais de membrane dans un sporange.

En 1897, J. SCHRÖTER, dans son article « Acrasieae » [52], dit que la germination de *Dictyostelium* et de *Polysphondylium* se fait seulement dans une solution nutritive spéciale et jamais dans l'eau ordinaire (1).

Schroter ajoute que la fructification se fait à la partie supérieure du milieu nutritif. Il admet que les myxamibes des plasmodes agrégés se rapprochent les unes des autres et s'enveloppent d'une membrane solide; déjà avant, elles grossissent et l'ensemble fusionné (verschmolzen) forme une tige composée d'une série de cellules. D'autres myxamibes grimpent sur cette tige et elles deviendront plus tard des spores à la partie supérieure de celle-ci.

NADSON, en 1899, dans un article intitulé : « Des cultures de *Dictyostelium mucoroides* et des cultures des Amibes en général »

---

(1) Ceci est inexact, car nous avons obtenu des germinations dans de l'eau distillée et stérilisée.

[43] émet des idées nouvelles sur la biologie de ces Myxomycètes Acrasiés. Brefeld, dans sa monographie sur le *Dictyostelium mucoroides* et sur le *Polysphondylium violaceum*, avait dit que les myxamibes se nourrissent exclusivement des matières dissoutes (sels) dans le milieu où elles vivent et fructifient.

Elles peuvent avec leurs pseudopodes prendre des particules solides, des Bactéries ou des spores d'autres Champignons, mais ne les digèrent pas. Nadson affirme le premier que les myxamibes de *Dictyostelium mucoroides*, pour vivre et pour fructifier, ont besoin de certaines Bactéries, par ex. *Bacterium fluorescens*. Pour confirmer son idée, il a essayé de cultiver le Myxomycète sans Bactérie, et il a constaté que dans ce cas les cultures sont très médiocres et finalement périssent. Mais Nadson n'admet pas que les myxamibes prennent des Bactéries pour les digérer dans leurs vacuoles ; il admet seulement qu'il existe, entre les colonies bactériennes et les myxamibes, une symbiose. Les Bactéries rendent le milieu alcalin par l'élaboration de l'ammoniaque, favorable au développement des myxamibes, tandis que celles-ci sécrètent une matière organique spéciale, indispensable pour le développement des Bactéries.

POTTS, en 1902, dans sa thèse *Zur Physiologie des Dictyostelium mucoroides* [50] combat cette dernière idée de Nadson ; mais il admet la nécessité de Bactéries pour le développement des Myxomycètes. Il a même essayé, comme Nadson, de cultiver le *Dictyostelium* sans Bactéries, et les cultures faites ainsi ne donnent aucun développement. Potts affirme que les myxamibes, au cours de leur évolution, vivent en parasites sur les colonies bactériennes. Mais, pour lui, les Bactéries ne sont jamais introduites dans les vacuoles pour être digérées.

*La digestion est extracellulaire, les myxamibes sécrètent une diastase qui attaque les Bactéries et les dissout : ce produit de dissolution est ensuite digéré par les myxamibes.*

Les myxamibes avant la formation du fruit forment des masses alignées qui se groupent en disposition rayonnante autour d'un centre. Les ramifications se réunissent petit à petit et passent finalement dans la masse centrale. Cette accumulation des amibes provoque un contact avec l'air, qui favorise la formation du pied. A mesure que le pied se forme, le reste du plasmode grimpe sur lui, se rassemble à la partie terminale et s'y transforme en masse de spores.

Potts affirme qu'il n'y a jamais de fusion des amibes en une seule masse ou plasmode. Les myxamibes gardent leur individualité dans tous les moments de leur évolution. Les cellules du

pied et les spores sont formées chacune par une seule myxamibe. Les amibes sont aérobies.

Le milieu alcalin convient le mieux au développement du *D. mucoroides* et le maximum d'alcalinité est de 0,8 %. Le *D. mucor.* peut fructifier dans l'air et dans l'eau. Dans le premier cas il possède un pied, et dans le second il n'en possède pas. Potts explique l'absence de pied par le manque d'aération. Le pied, d'après lui, est *négativement hydrotropique et positivement héliotropique*. Si la température est basse, la lumière n'a aucune influence négative sur le développement de *D. mucoroides*. La lumière diffuse a une double influence : 1<sup>re</sup> elle arrête le développement du pied et 2<sup>o</sup> elle augmente la transpiration.

Potts donne trois températures cardinales dans lesquelles le *D. mucoroides* peut se développer : maxima + 27°, optima + 23-25° et minima + 7°.

L'aérotropisme positif est, pour Potts, la cause de l'élévation de la masse protoplasmique — l'oxygène attire la masse du pseudoplasmodium à travers le liquide nutritif.

La cause de l'arrêt de la formation du pied et du commencement de la formation des spores est, pour Potts, l'augmentation de la transpiration : dans l'air humide le pied est plus long que dans l'air sec.

Potts admet encore que la cause la plus probable de la formation des sporanges est le manque de nourriture : en mettant dans une liqueur nutritive des myxamibes qui doivent devenir des spores, il constate qu'elles reprennent leur vie végétative et plus tard, formant un fruit, donnent le pied et les spores.

Potts affirme en plus que les myxamibes ne forment pas directement les spores, ni même les cystes qui, d'après Van Tieghem, ressemblent beaucoup aux spores normales et dont Potts n'a jamais observé la formation : elles doivent passer par le stade de plasmode et celui-ci est plus qu'une agglomération mécanique des myxamibes.

La même année, PINOY publie son premier travail sur la *Nécessité de la présence d'une Bactérie pour obtenir la culture de certains Myxomycètes* [46]. Il dit avoir réussi des cultures pures de certains Myxomycètes, comme par ex. *Chondrioderma difforme* et *Didymium effusum*. Il aensemencé les spores provenant de ces cultures dans des tubes de gélose de bois et il a pu observer que certains tubes ne donnent lieu à aucun développement et restent stériles ; dans les autres, au contraire, *contenant des Bactéries*, à la surface de la gélose se forment successivement des amibes, des plasmodes, et les appareils sporifères. Il a pu même isoler la Bactérie « qui fournit un bon aliment à *Chondrioderma*

*difforme* et à *Didymium effusum*, et obtenir des cultures contenant seulement cette Bactérie et le Myxomycète. » Pinoy identifie cette Bactérie avec *Bacillus nuteus* Flugge.

Il admet donc non seulement que la Bactérie est indispensable pour la nourriture des zoospores, des myxamibes et des plasmodes, *mais aussi que sa présence est indispensable pour que les spores puissent germer.*

OLIVE (Edgar) a publié, la même année que Pinoy (1902), un intéressant travail en anglais, intitulé : « Monograph of the Acrasieae » [44]. Ce travail se résume ainsi. Les spores en germination donnent de petites myxamibes qui ne tardent pas à grandir et à se diviser. Olive distingue deux catégories de divisions au cours du développement des Dictyostéliacées : la première division, peu après la germination, se fait lentement, *la nuit*, et ressemble à une division indirecte. La deuxième division « occurs during the subsequent active vegetative condition », s'effectue en cinq minutes et ressemble à une division directe. Mais Olive reconnaît qu'il n'est pas capable de dire laquelle des deux divisions est constante dans la vie de ces Myxomycètes et laquelle est accidentelle (occasionally) seulement.

Dans la division caryocinétique, chaque myxamibe emporte la moitié de chaque chromosome. Les vacuoles entourent ces chromosomes et ceux-ci, dit l'auteur, peuvent présenter dans le liquide vacuolaire des mouvements browniens. Les individus provenant des divisions du premier type abondent surtout à la première heure du matin. Les stades qu'Olive a observés se rapportent exclusivement à l'anaphase, et les chromosomes en U ou doubles sont, pour lui, le résultat de l'accolement de plusieurs chromosomes.

Les Bactéries jouent un rôle capital dans l'évolution des Dictyostéliacées. Olive s'exprime ainsi sur le rôle des Bactéries : « Even though these phenomena suggest that bacteria, or more probably the products of bacterial activity are utilized as food by all the spores of the Acrasieae, long and careful study leads on to the same conclusion which de Bary held concerning the Myxomycetes, namely, that during the vegetative stage, nourishment is mainly absorbed in liquid form, and that the ingestion and digestive of solid particles exceptional ».

Pour affirmer l'importance des Bactéries dans le développement des Dictyostéliacées, Olive déclare qu'il a obtenu des cultures complètement pures, sans Bactéries, mais que ces cultures sont restées extrêmement pauvres. D'autre part, Olive affirme que s'il y a beaucoup de Bactéries mobiles, celles-ci peuvent attaquer le protoplasme des myxamibes et les détruire.

Avant la fructification, les myxamibes s'agrègent en un pseudoplasmode, dont chaque élément, c'est-à-dire chaque myxamibe, garde son individualité malgré l'apparente fusion.

Certaines myxamibes deviennent centres d'attraction pour les autres, qui arrivent parfois de très loin pour prendre part à la formation du pseudoplasmode. Olive attribue cette attraction au chimiotactisme. Chaque pseudoplasmode possède deux sortes de myxamibes, celles qui vont donner des spores et celles qui vont former le pied. A l'intérieur de la masse plasmique, certaines myxamibes acquièrent de grandes vacuoles.

Celles-ci grandissent par suite de l'absorption d'eau, la masse pseudoplasmodique s'élargit, elle aussi. L'augmentation de volume des cellules vacuolaires cause leur pression réciproque, qui leur donne la forme polygonale. La cellulose qu'elles sécrètent forme la paroi solide et le ciment qui les réunit aux cellules voisines. Olive suppose que ce sont précisément les vacuolés qui sécrètent les éléments nécessaires pour la formation du pied et des spores.

La masse pseudoplasmodique monte lentement, mais la cause de cette ascension n'est pas connue de l'auteur. Il suppose que c'est la perte progressive d'eau par transpiration qui règle cette ascension, l'arrête ensuite et provoque la formation des spores à la partie terminale du pied.

Quand les conditions d'une culture d'Acrasiées deviennent défavorables, les myxamibes s'arrondissent et passent à la vie latente ; ce sont les microcystes, dont l'existence est contestée par Potts, mais qui a été antérieurement constatée par Brefeld et par Van Tieghem.

L'année suivante, PINOY publie un article intitulé : « Nécessité d'une symbiose microbienne pour obtenir la culture des Myxomycètes » [47], dans lequel il décrit les résultats de ses recherches sur un Myxomycète du groupe des Acrasiées, *Dictyostelium mucoroides*. Pinoy dit : « Ayant obtenu des cultures pures de *Dictyostelium mucoroides* avec une variété de *Bacillus fluorescens liquefaciens* de Flügge, ne se développant pas à la température de 37°, je les ai chauffées à la température de 50° pendant une heure. Dans ces conditions, les Bactéries sont tuées, ce dont on s'assure d'ailleurs par un ensemencement en bouillon ordinaire, et l'on a ainsi des spores rigoureusement pures. « Ces spores ensemencées seules ne germent jamais. Elles ne germent qu'à partir du moment où on leur adjoint une espèce bactérienne convenable ».

P. VUILLEMIN, la même année, dans un article intitulé : « Une Acrasiée bactériophage » [59], tâche de prouver, comme Pinoy, la nécessité d'une Bactérie pour le développement de *Dictyostelium*

*mucoroides*. Il dit notamment : « Si la semence n'a pas apporté des Bactéries, rien ne pousse ; rien, du moins, n'est visible à l'œil nu, car, au microscope, on découvre des amibes *issues des spores*. Dans ces semis en apparence stériles, il suffit d'introduire le Bacille isolé pour mettre le développement en train ».

Nous voyons la divergence de vues entre Pinoy et Vuillemin. Le premier admet que la Bactérie est indispensable pour la germination des spores, tandis que le second admet que la Bactérie est indispensable pour les stades qui suivent la germination des spores. Celle-ci n'a pas besoin du concours des Bactéries. Nous penchons personnellement pour l'opinion de Vuillemin.

JAHN, en 1905, dans un article : « Die Keimung des Sporen » [32], parle de la germination des différentes espèces de Myxomycètes. Chez *Ceratiomyxa* [28] une spore en germant donne une myxamibe à 4 noyaux. Chacune de ces parties se divise une fois et finalement la masse primitive aboutit à 8 zoospores ciliées, munies chacune d'un noyau.

Le travail de Jahn concernant *Ceratiomyxa* n'est, en somme, qu'une série d'hypothèses. Il n'a jamais observé la formation des plasmodes par la fusion des myxamibes, dans les conditions artificielles. Jahn suppose 5 stades par lesquels passerait une *Ceratiomyxa* après la germination :

- 1<sup>er</sup> stade de « plasnants » ;
- 2<sup>e</sup> » » formation des « cornes » ;
- 3<sup>e</sup> » » « mailles » ;
- 4<sup>e</sup> » » formes amiboïdes ;
- 5<sup>e</sup> » » spores.

Une chose qui saute aux yeux en lisant le travail de Jahn, c'est que le mot « probablement » y revient bien trop souvent. Nous ne pouvons par conséquent tirer aucune conclusion sérieuse de ce travail.

Chez les autres Myxomycètes, les spores sont uninucléées. Jahn admet que la germination se fait de deux façons différentes : par le *déchirement* de la paroi de la spore, ou par le *phénomène osmotique*. La première hypothèse lui paraît moins vraisemblable et c'est à la seconde qu'il attache le plus d'importance.

La formation du cil vibratil reste, pour Jahn, en relation étroite avec la concentration de la solution nutritive.

La germination dépend aussi de l'âge des spores, de la température et de la solution nutritive.

Pour forcer à la germination les espèces difficiles, Jahn les dessèche et les mouille plusieurs fois de suite.

Jahn tire ensuite des conclusions fort originales (peut-être trop originales pour être vraies), concernant la germination des

des spores. L'impossibilité de germer que présentent les spores de certaines espèces vient de l'inertie de la « matière maternelle » des spores, dans laquelle se trouve la vraie matière *provocante* ou *incitatrice* de la vie. Celle-ci peut être éliminée de la « matière maternelle » par une série de procédés de dessiccation, de mouillage et par l'action chimique. Cette matière ravivante, Jahn la compare aux enzymes.

Jahn admet que la matière osmotiquement favorable pour réveiller la vie du protoplasme est le sucre. Or, on a observé, dans le protoplasme des spores, des grains de *glycogène*, substance hydrocarbonée, qui fournissent du maltose, ce dernier étant favorable à la germination. Donc, la matière germinative est, d'après Jahn, une *enzyme* qui transforme le glucose en maltose : autrement dit, cette matière germinative ou incitatrice est une *glycogénase*.

PINOY, dans deux importants mémoires constituant sa thèse de doctorat ès sciences [48] donne les résultats de nouvelles recherches sur les Myxomycètes et surtout sur les Myxomycètes Acrasiés. Il essaie de résoudre deux questions très importantes : 1<sup>o</sup> Peut-on obtenir un léger développement de *Dictyostelium mucoroides* sans Bactéries ? 2<sup>o</sup> Les Bactéries ne servent-elles qu'à préparer des aliments solubles pour le *Dictyostelium* ? Y a-t-il dans celui-ci une diastase extracellulaire ou une diastase intracellulaire ?

Pour son étude, Pinoy fait des « cultures pures mixtes » c'est-à-dire qu'il cultive le *Dictyostelium* en association avec le *Bacillus fluorescens* Flugge. Cette Bactérie, d'après Pinoy, ne se développe pas à une température supérieure à 35° et elle est tuée à 56° en deux minutes.

Les spores germent et donnent des fructifications seulement en présence de la Bactérie. Dans les endroits où il n'y a pas eu de développement de Bactéries, Pinoy a vu que les spores se conservent parfaitement sans germer.

La démonstration de Pinoy repose sur la séparation complète des Bactéries et des spores. Il l'obtient par l'action de la vapeur d'éther ou de chloroforme, ou même par l'action de la chaleur, et, à ce propos, il dit : « J'ai mis à profit que le Bacille fluorescent associé était tué en milieu humide à une température de 50° prolongée pendant une heure. Dans les mêmes conditions 80 % des spores de *Dictyostelium mucoroides* sont encore capables de germer ».

« Des spores ainsi purifiées peuvent être mises sur tous les milieux de culture et ne germent jamais. Elles ne germent que si on leur adjoint une Bactérie convenable. On vérifie ainsi d'une

manière absolue que les spores de *Dictyostelium mucoroides* ne germent qu'en présence d'une Bactérie ».

En dehors du Bacille fluorescent, Pinoy a pu obtenir des fructifications en ensemençant des spores pures associées avec diverses espèces de Bactéries : par exemple, *Bacillus coli*, *Bacillus Friedlaenderi*, *Bacillus kieli*, *Bacillus prodigiosus*, *Bacillus violaceus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio metchnikowi* et en général avec la plupart des Bactéries qui ne prennent pas le Gram.

Ensuite, Pinoy étudie les rapports réciproques de la Bactérie et de l'Acrasiée, dans une culture mixte, et il se demande s'il y a *commensalisme*, *symbiose* ou *parasitisme*?

En colorant *in vivo* les myxamibes par le neutralroth, il a pu observer dans les vacuoles de celles-ci des Bactéries en voie de digestion, car, dans les myxamibes, le neutralroth ne colore en rouge foncé que les Bactéries en voie de digestion et les granulations qui proviennent de leur destruction. Donc, les *Dictyostelium mucoroides* vivent en parasites sur les colonies bactériennes.

La diastase élaborée par les myxamibes est appelée par Pinoy : « acrasidiastase » ; elle liquéfie la gélatine et se rapproche de la trypsine, n'agissant comme celle-ci qu'en milieu alcalin, neutre ou faiblement acide. En milieu acide elle n'agit pas du tout. Cette diastase ne digère pas les Bactéries tuées par la chaleur, mais elle dissout les Bactéries tuées par le chloroforme ou l'éther.

Le pigment des Bactéries chromogènes permet de relever *in vivo* la structure des myxamibes des Acrasiées. La violacéine, par exemple (chez *Polysphondylium violaceum* associée de *B. violaceum*) constitue ainsi que l'a déjà montré M. le professeur Matruchot [40] un colorant vital d'une extrême délicatesse. Elle montre la structure de l'endoplasme et colore aussi le caryosome à l'état de repos ou à l'état de division.

Pour les premiers stades de la vie d'une myxamibe, Pinoy dit qu'une amibe qui sort de la spore prend immédiatement une forme irrégulière (préparation à l'hématoxyline au fer). L'amibe se divise un plus ou moins grand nombre de fois, le mode de division étant toujours le même. Il s'agit ici d'une division indirecte très simplifiée. Il n'y a ni centrosomes, ni filaments de linine.

H. A. HARPER, en 1914, dans un article intitulé : « Cleavage, in *Didymium melanospermum* (Pers.) » [26] s'occupe des derniers stades de la formation des sporanges. Il prend des masses plasmatiques au moment de leur fructification et il les fixe à divers intervalles de temps. Il fait des coupes colorées qui lui permettent d'observer les derniers stades du développement.

La partie périphérique et la partie voisine de la columelle sont

granuleuses. La zone moyenne est au contraire très *vacuolaire* et presque écumeuse. C'est dans les régions condensées que se formeront les spores et pas du tout dans la région moyenne. Le capillitium est déjà formé avant la condensation de la masse protoplasmique. A ce stade, les noyaux ne sont pas répartis uniformément dans la masse protoplasmique, ils ne sont pas de même grandeur et Harper n'a remarqué aucune division à ce stade. Il distingue 3 types de noyaux : *a*) de très petits noyaux ; *b*) de noyaux de taille moyenne, très bien différenciés et de forme arrondie ; leur chromatine est granuleuse ou en filament formant des figures ; *c*) des noyaux de troisième type encore plus grands. Dans la masse protoplasmique, surtout à la périphérie, il se forme des *cavités* ou dépressions par lesquels passent les filaments capillitiaux. Les noyaux ont tendance à occuper la zone de cytoplasme adjacente à la membrane protoplasmique limitant les cavités capillitiales. Dans cette région de morcellement du protoplasme, Harper a observé la division de nombreux noyaux (75 %) : il a vu des plaques équatoriales. Plus profondément, les noyaux restent pour la plupart non divisés. Dans le *Didymium*, à côté des noyaux en division, il y en a beaucoup qui restent non divisés. Dans le *Fuligo*, au contraire, à ce stade tous les noyaux sont en voie de division. Harper admet que dans *Didymium* il y a une seule division caryocinétique des noyaux entre le moment du plein développement des sporanges et la maturation complète des spores. Au moment de la division des noyaux, l'auteur n'a pas observé ni fuseau achromatique, ni aster.

Toute la masse protoplasmique se divise en plaques cylindriques par des sillons allant de la périphérie à la columelle. Cette division progressive de la masse protoplasmique aboutit à la formation des spores uninucléaires. Dans le *Fuligo* il se forme toujours des blocs *binucléaires* qui vont donner des spores unicléaires. La division de la masse en blocs et ceux-ci en spores est en connexion, d'après Harper, avec l'évaporation de l'eau.

## B. — TECHNIQUE.

### 1. — *Obtention du matériel.*

Dès le début de nos études sur les Myxomycètes, nous avons voulu avant tout nous procurer un matériel assez abondant, qui permît de continuer les recherches sans interruption. Il fallait pour cela avoir au laboratoire un matériel vivant, qu'on pût repiquer à volonté en milieu artificiel, c'est-à-dire, en somme, des cultures pures renouvelées de temps en temps.

Nous avons essayé d'obtenir ce matériel vivant à partir des

spores de plusieurs espèces de Myxomycètes, récoltés au cours de multiples excursions dans la forêt de Fontainebleau ou dans les bois de Meudon et de Clamart.

Mais, parmi les espèces essayées, trois seulement ont donné des résultats positifs : *Didymium nigripes*, *Dictyostelium mucoroides* (1) et enfin *Ceratiomyxa fruticulosa*. Les deux premières espèces m'ont donné de belles fructifications sur milieu artificiel ; la dernière a fourni seulement les premiers stades du développement.

Pour reproduire ces trois espèces, nous ensemencions les spores sur milieu nutritif et particulièrement sur gélose (2), sur bois pourri, sur tiges de foin, ou enfin sur carotte rouge (3),

Les spores ensemencées dans ces milieux donnent, au bout de quelques jours, des fructifications abondantes ; en dehors des Bactéries qui, comme nous le verrons plus loin, servent de nourriture au Myxomycète, la culture ne renferme pas d'autres organismes : c'est une « culture pure mixte ».

Nous avons pu ainsi obtenir par an plusieurs générations représentant des centaines de sporanges, donc un matériel copieux et assuré.

Pour la reproduction de *Dictyostelium mucoroides*, nous avons employé de préférence des tranches de carotte stérilisées, ou encore des tubes contenant des bandes de papier buvard plongées à moitié dans de l'infusion de foin ; ces deux modes de culture donnent d'excellents résultats.

Cette technique très simple permet également d'étudier l'influence de différents facteurs extérieurs sur le développement des Myxomycètes : température, humidité, action de substances chimiques ajoutées au substratum de la culture, lumière, etc.

Pour étudier le développement dès la germination des spores, nous avons employé simplement des lames et lamelles stérilisées à la flamme. Nous fixons les lamelles sur les lames à l'aide de quatre boules de cire stérilisée. C'est entre lame et lamelle ainsi préparées que nous introduisons, à l'aide d'une pipette flambée, le liquide nutritif qui est ici une infusion de foin à 10 % ou un peu de l'eau qui se dépose au fond des tubes de gélose stérilisée. Dans ce

---

(1) Recueilli sur un oignon pourri, par le Professeur Matruchot qui nous en a gracieusement offert une culture.

(2) 20 grammes de gélose lavée pendant vingt-quatre heures dans l'eau ordinaire courante, ce qui enlève toutes les substances acides, sont ajoutés à 1 litre d'eau préalablement bouillie avec 10 grammes de foin ; on filtre le tout et on répartit dans des tubes à essai.

(3) Ce milieu ne convient pas au développement de *Didymium nigripes*.

liquide nous ensemençons les spores. Les cultures ainsi préparées sont placées dans des boîtes de Petri flambées contenant de l'eau stérilisée qui conserve l'humidité de la préparation et favorise ainsi la marche normale du développement de l'organisme.

Nous avons abandonné le système des cellules Van Tieghem si utilisé jusqu'alors pour les Moisissures; la fermeture complète de ces cellules, qui entraîne une aération insuffisante, est nuisible au développement normal des Myxomycètes. Notre système nous permet, de plus, l'observation directe, à un fort grossissement, de tous les stades du développement, ce qui est presque impossible avec les cellules Van Tieghem.

Pour que l'examen soit net et facile, il est préférable de se servir de petites lamelles, par ex.  $5 \times 5$  mm et d'ensemencer une faible quantité de spores. Si, au contraire, on sème une trop grande quantité de spores, le nombre d'individus nés devient considérable; ceci, d'une part, provoque une trop grande modification chimique du milieu nutritif par rejet du contenu vacuolaire; d'autre part, l'examen microscopique *in vivo* devient très difficile, à cause du trop grand nombre de zoospores ou de myxamibes qui se rassemblent en masse compacte au bord de la préparation.

Nous aurions voulu mettre au point l'histoire complète de l'évolution du représentant du troisième groupe (Myxomycètes Exosporés), *Ceratiomyxa fruticulosa*. Mais le développement de cette espèce en milieu artificiel ne va pas jusqu'à la formation des sporanges. Les spores de ce Myxomycète germent très bien et, un jour après, les masses protoplasmiques issues de cette germination donnent, après une double division, de petites zoospores ressemblant beaucoup aux zoospores des Myxomycètes Endosporés. Le stade de la division dépassé, le développement ultérieur s'arrête sans que nous sachions pourquoi. La trop faible quantité d'individus dont nous disposons, recueillis sur un morceau de bois pourri dans la forêt de Fontainebleau, nous a seulement permis d'examiner les premiers stades du développement et nous nous abstenons d'émettre une opinion quelconque sur la marche progressive du développement de cette espèce. Jahn [28] en parle longuement, mais son travail ne nous apprend pas grand'chose: c'est un ensemble d'hypothèses, purement et simplement.

## 2. — Technique histologique.

a) *Fixation*. — Comme les zoospores dans leur état le plus avancé, les myxamibes et les plasmodes se collent à la paroi de la lame; nous fixons nos préparations directement en introduisant

d'un côté le fixateur à l'aide d'une fine pipette entre la lame et la lamelle, en mettant soigneusement du côté opposé un morceau de papier buvard qui a pour rôle, tout en retenant la lamelle, d'aspirer la liqueur nutritive remplacée par le fixateur.

Les fixateurs employés par nous ont été seulement le liquide de Flemming et le picroformol de Bouin. C'est surtout ce dernier qui nous a donné les meilleurs résultats à cause de sa pénétration très facile ; en plus il a la faculté de débarrasser des inclusions lipoides la masse protoplasmique et de dissoudre les granulations métachromatiques qui, si elles persistaient, masqueraient le noyau qui se colore de la même façon.

b) *Coloration*. — Après fixation avec le Bouin pendant 12 h. nous enlevons le fixateur à l'aide de papier buvard, sans déranger la lamelle et nous lavons la préparation avec de l'acool à 70 %. Ce lavage est très utile, parce qu'il fait disparaître des précipités qui se sont formés au cours de la fixation. Après le lavage à l'alcool, nous passons un courant d'eau distillée et ensuite, si la préparation doit être colorée par l'hématoxyline-vert-lumière, nous remplaçons l'eau par la solution d'alun de fer à 3 %. Ce mordantage est indispensable pour l'obtention de belles colorations électives ; il dure 12 h. Nous lavons ensuite la préparation avec de l'eau ordinaire et nous la colorons pendant 24 h. avec l'hématoxyline. Au bout de ce temps les préparations sont surcolorées et pour obtenir la seule coloration du noyau il faut différencier avec l'alun de fer à 1 et 1/2 % sous l'objectif du microscope. Les noyaux seuls sont noirs. Pour avoir une belle double coloration nous avons traité les préparations, après les avoir préalablement lavées à l'eau ordinaire et l'eau distillée, avec le vert-lumière (Lichtgrün) ou l'éosine. Le premier colorant nous a paru meilleur que le deuxième, à cause de sa propriété de colorer bien proprement en vert le protoplasme et de rendre plus forte la coloration de l'hématoxyline.

Après la fixation au Flemming nous avons employé deux doubles colorations : safranine-vert lumière (Babes) et hématoxyline-safranine (Regaud). Mais ces colorations donnent de moindres résultats que l'hématoxyline ferrique — et c'est celle-ci qui nous a presque toujours servi au cours de nos recherches.

En somme la coloration à l'hématoxyline est très facile à pratiquer et elle réussit toujours très bien.

## C. — ETUDE DE *DIDYMIUM NIGRIPES*

### Généralités.

*Didymium nigripes* se trouve à l'état naturel surtout sur le bois ou sur le foin pourris. C'est une espèce très abondamment répandue et cela s'explique facilement : les spores de *D. nigripes* germent en effet très sans difficulté au contact de l'eau de pluie et les fructifications sont toujours très abondantes. Cette reproduction se répète d'ailleurs plusieurs fois au cours de la saison, qui dure depuis le début du printemps jusqu'à la fin de l'automne.

Les sporanges sont constitués par une tête sphérique, un peu aplatie aux pôles, supportée par un pied de taille variable suivant le milieu de culture. La partie externe du sporange est recouverte d'une croûte calcaire de couleur grise. Mais si le développement s'est fait dans un milieu trop humide, la concrétion calcaire n'est pas visible et les sporanges sont complètement noirs.

a) *Spore*. — La spore de *Didymium nigripes* est parfaitement sphérique, quand la culture dont elle provient s'est développée dans les conditions normales, et elle est couverte d'échinules sur toute sa périphérie. Elle mesure 5  $\mu$ . Elle est brune en général, mais l'intensité de cette couleur change selon le milieu où s'est développé le sporange. Les spores qui proviennent de sporanges cultivés sur les tiges de foin sont très claires et les échinules bien visibles; la membrane est tellement mince que vue par transparence, elle ne présente pas de double contour (Pl. I, fig. 1). Les spores provenant de sporanges cultivés sur gélose sont plus foncées et la membrane très épaisse, montre un double contour. De plus les spores provenant de ces dernières cultures sont un peu plus petites que les premières.

b) *Germination*. — Le problème de la germination des spores a préoccupé de nombreux auteurs, comme de Bary, A. Lister, Jahn, Pinoy et beaucoup d'autres. Ces auteurs émettent les idées les plus contradictoires sur ce phénomène. En somme le problème de la germination n'a pas été définitivement résolu et son mécanisme demande encore à être éclairci.

Nous-même, après de nombreuses expériences, nous nous rallions à l'opinion de De Bary, pour lequel la germination des spores n'est qu'un simple phénomène *osmotique*.

Nous avons remarqué que les spores de *Didymium nigripes* germent le plus facilement dans l'eau pure distillée. Cette eau, en pénétrant à l'intérieur de la spore, détermine le gonflement de la masse protoplasmique, ce qui provoque la rupture de la paroi. Nous avons suivi avec soin le phénomène de la germination au

microscope, et malgré une observation attentive nous n'avons jamais remarqué de points particuliers de rupture de la paroi de la spore. Elle se déchire en deux, en trois et même en quatre parties.

Jahn, en se basant sur le fait que les spores de beaucoup de Myxomycètes ne veulent pas germer du tout, admet l'existence d'une matière spéciale qu'il dénomme, comme nous avons vu plus haut, « matière maternelle » des spores, dans laquelle se trouve la vraie matière « provocante » ou « incitatrice ». C'est grâce à l'action de cette matière provocante qu'une spore pourrait germer. Il assimile aux enzymes cette matière provocante qui transforme le glycogène de la matière protoplasmique en maltose lequel est favorable à la germination des spores, et il dénomme « glycogénase » cette matière provocante du protoplasme des spores. Mais il ne l'a jamais isolée, malgré qu'il dise que cette matière incitatrice peut être éliminée par une série de procédés de dessiccation et de mouillage et par action chimique ; Jahn ne dit pas par quelle action chimique il extrait cette matière incitatrice et il n'indique pas non plus le mode de fonctionnement de celle-ci. Cette théorie sur la matière maternelle et sur la matière provocante est trop hypothétique pour que nous puissions l'admettre.

Une longue observation nous permet d'affirmer l'existence d'un phénomène osmotique.

Tout d'abord l'expérience avec différentes solutions sucrées, qui d'ailleurs a été faite aussi par Jahn, nous permet de confirmer notre point de vue.

Une solution hypertonique de glucose (21 %) empêche la germination des spores ; on voit bien à travers la paroi de la spore que le protoplasme se rétracte fortement. Si nous diminuons progressivement la concentration de la solution sucrée, la masse protoplasmique se gonfle et reprend finalement sa forme normale. c'est-à-dire celle de la paroi à laquelle elle adhère intimement. Mais la germination peut malgré cela ne pas avoir lieu. Pour que celle-ci puisse avoir lieu, il faut que la concentration diminue encore.

La vitesse de cette germination dépend de la teneur en sucre de la solution en présence.

C'est dans l'eau pure que les spores germent le mieux

Ayant des solutions à teneur inconnue de sucre (glucose ou saccharose) et des spores complètement mûres (qui nous ont déjà servi dans nos expériences de départ), nous pouvons définir approximativement, d'après le temps nécessaire pour la germination des spores et la quantité des spores germées, le pourcentage de sucre contenu dans la solution donnée.

Dans nos expériences, nous nous sommes servi de trois solutions différentes :

1) Eau pure (distillée) ; dans ce milieu les spores germent au bout de trois heures.

2) Solutions hypotoniques de glucose (jusqu'à 18 %) ; les spores germent lentement et en nombre variable selon la concentration du glucose.

3) Solutions isotoniques ( de 18 à 20 %) de glucose ; les spores ne germent pas du tout, le protoplasme ne se rétrécit pas.

4) Solutions hypertoniques (20 à 29 %) de glucose ; le protoplasme se rétrécit progressivement et cette rétraction augmente avec l'augmentation de la concentration de la solution de sucre. Quand cette solution est de 30 % les spores sont tuées.

Il faut ajouter que ces quatre catégories de cultures étaient placées dans une étuve à la température de 16°.

Le changement de forme de la masse protoplasmique dans les différentes solutions sucrées, le retour à l'état normal à mesure que la concentration de la solution diminue et enfin le fait que la germination des spores est d'autant plus rapide que cette dernière s'approche de 0°, tout cela prouve que la germination des spores de *Didymium nigripes* a pour cause un simple phénomène *osmotique*.

S'il en est ainsi, pourquoi les spores de beaucoup d'autres Myxomycètes ne germent-ils pas ou tout au moins germent si difficilement ? Nous avons remarqué, après bien d'autres auteurs, que les spores de la majorité des Myxomycètes ne germent pas dans les conditions artificielles, *malgré la présence de Bactéries appropriées*, ni dans l'eau distillée ni dans les différentes infusions, si l'on fait usage de sporanges récemment formés. Mais si nous mettons au préalable ces sporanges à sécher pendant un temps assez prolongé et puis si nous semons les spores dans l'eau distillée, celles-ci ne tarderont pas à germer ; et cette germination se fera d'autant plus vite que les spores seront plus sèches. Ce phénomène est facile à expliquer ; les spores se desséchant, leur paroi devient plus fragile et moins résistante à la poussée de la masse protoplasmique. D'autre part nous savons que les spores de toutes les espèces à germination forcée ne donnent pas de fructifications dans les conditions artificielles : l'évolution s'arrête au stade de myxamibes. Il leur manque pour le développement complet un élément que nous ne connaissons pas et qui intervient certainement dans les conditions naturelles. Et nous sommes en droit d'admettre que si, dans nos expériences de laboratoire, nous forçons à germer des spores qui ne sont pas disposées à le faire, puisque cette germination forcée par des procédés physiques n'aura aucune

suite, c'est donc bien que ce phénomène de la germination forcée n'est qu'un phénomène purement *osmotique*.

Chez *Didymium nigripes* cette germination est suivie de la formation du plasmode et des fructifications. Les spores qui proviennent des cultures sur le foin germent plus facilement et plus tôt que les spores provenant des cultures sur la gélose. Les premières ont la paroi plus fine, donc plus fragile.

Pinoy considère la question de la germination d'une autre façon. Le titre de son article traitant cette question nous montre déjà clairement son point de vue : « Nécessité de la présence d'une Bactérie pour obtenir la culture de certains Myxomycètes ».

D'après Pinoy, pour qu'une spore puisse germer, il faut qu'elle se trouve en présence d'une Bactérie, qui, pour *Chondrioderma* et *Didymium*, est, d'après lui, *Bacillus luteus*. Pinoy a isolé cette Bactérie et il l'a cultivée à part.

Mais Pinoy ne dit pas comment agit cette Bactérie sur les spores qu'elle accompagne. Produit-elle une matière incitatrice qui réveille la matière protoplasmique et l'oblige à germer ? Ou prépare-t-elle un milieu chimiquement favorable à la germination des spores ? Ou agit-elle directement sur la paroi de spore pour en faciliter la rupture ? Pinoy n'en dit pas un mot. Il constate seulement que certaines cultures, contenant des Bactéries, donnent des fructifications, et les autres (où il n'y a pas des Bactéries) n'en donnent pas.

Nous sommes arrivé, au cours de nos recherches, à des conclusions différentes de celles de Pinoy. Tout d'abord la constatation du phénomène osmotique dans la germination des spores exclut l'intervention des Bactéries dans celle-ci.

Si nous ensemençons des spores de *Didymium nigripes* complètement mûres dans une infusion de foin (10 %) ou dans l'eau pure, les spores ne tardent pas à germer (au bout de trois heures), sans que la Bactérie qui les accompagne puisse prendre un développement appréciable. Les spores germent tellement vite par rapport à l'accroissement du nombre des Bactéries, que celles-ci ne peuvent pas avoir le temps de produire une influence directe ou indirecte sur cette germination.

Pour préciser ces conclusions, nous avons ensemencé à plusieurs fois une seule spore dans une petite goutte d'infusion de foin. Une pareille préparation nous a permis d'apprécier au microscope le nombre approximatif des Bactéries présentes, leur accroissement et en même temps la germination de la spore. Le nombre infiniment petit des Bactéries dans de telles préparations ne peut exercer aucune influence sur la germination de la spore.

L'expérience est encore plus démonstrative quand nous ensemençons la spore, non pas dans une infusion de foin, mais dans, l'eau pure stérilisée ; ce milieu étant complètement hypotonique la spore germe encore plus vite, tandis que les Bactéries privées de principes nutritifs, se développent très lentement et par conséquent ne peuvent avoir aucune influence sur la germination. Celle-ci est donc un acte indépendant ; elle est, nous le répétons, un phénomène osmotique.

La coexistence des Bactéries avec les Myxomycètes et leur rôle dans le développement de ceux-ci, ont suggestionné plusieurs auteurs, tels que Nadson, Olive, Potts, Vuillemin, Pinoy. Ils exagèrent beaucoup ce rôle. C'est Vuillemin qui, selon nous, est le plus proche de la vérité : pour lui les Bactéries servent tout simplement, telles quelles, de nourriture aux zoospores, myxamibes et plasmodes, et ne prennent aucune part dans la germination des spores.

Pinoy va plus loin ; il admet non seulement que les Bactéries sont indispensables comme nourriture pour les Myxomycètes, mais qu'elles constituent aussi le facteur principal de la germination des spores [46]. Pour le prouver il fait une série d'expériences ayant pour but de séparer les Bactéries des spores et de purifier complètement ces dernières. Il emploie, pour cette séparation, des vapeurs de chloroforme ou d'éther, ou la chaleur. Pour ce dernier procédé, il met les tubes contenant les semences du Myxomycète dans une étuve dont la température est suffisante pour tuer les Bactéries et libérer ainsi les spores. *Bacterium fluorescens* Flugge ne se développe pas à une température supérieure à 35° et elle est tuée à 56° en deux minutes. Et Pinoy affirme que les spores ainsi purifiées peuvent être mises sur tout milieu de culture et ne germent jamais. Elles ne germent que si on leur adjoint une Bactérie convenable.

Au cours de nos expériences nous avons remarqué que la vitalité des Bactéries est plus grande que celle des spores des Myxomycètes sur lesquelles nous avons opéré. La connaissance de ce fait nous a amené à des conclusions différentes de celles de Pinoy. Nous avons répété plusieurs fois ses expériences et elles nous ont donné des résultats complètement différents. Ayant préparé plusieurs tubes de gélose dans lesquels nous avons ensemencé des spores provenant d'un seul sporange de *Didymium nigripes*, nous les avons placés dans des étuves à différentes températures.

*Série a.* — Les cultures ont été placées à la température de 18° ; les spores ont germé et le développement se fait d'une façon normale jusqu'à la fructification.

*Série b.* — Les cultures ont été placées à la température de 22° ;

toutes les spores germent, il se forme un plasmode, mais il n'aboutit pas à la fructification. On observe un fort développement des Bactéries.

*Série c.* — Les cultures ont été placées à la température de 38° ; il s'est fait un fort développement des Bactéries et la germination des spores n'a pas eu lieu. Nous avons transporté ces cultures à la température ordinaire (15-16°), un certain nombre de spores (1) ont germé, les plasmodes se sont formés et la fructification a eu lieu quelques jours plus tard.

*Série d.* — Les cultures ont été placées à la température de 50° ; nous avons constaté un très léger développement des Bactéries. Les spores ne germent pas, elles meurent au bout de douze heures.

Nous avons vu que Pinoy, pour débarrasser de Bactéries les spores, les soumettait à la chaleur. D'après lui, les spores supportent plus facilement la haute température que les Bactéries. Nos expériences nous amènent à des conclusions différentes. Les Bactéries supportent plus facilement les hautes températures que les spores de *Didymium nigripes* (et de *Dictyostelium mucoroides*), comme nous le verrons plus loin) et par la chaleur au lieu de supprimer les Bactéries nous supprimons les spores. Donc, d'après nous, l'épuration des spores ne peut pas se faire par le moyen de la chaleur.

Nous répétons encore une fois que la germination est un simple phénomène d'osmose.

c) *Influence des facteurs extérieurs et du milieu nutritif sur le développement du Didymium nigripes.*

Les Myxomycètes sont très sensibles à l'action des conditions extérieures. De longues observations faites sur ce groupe, pendant quatre années, nous permettent d'apporter à ce sujet quelques renseignements nouveaux en ce qui concerne l'action des milieux de culture.

Le *Didymium* pousse bien sur le bois pourri, sur une gélose au foin (décoction de foin à 10 %), sur les tiges de foin, de fève. Il se développe en un maigre plasmode sur pomme de terre, où la prolifération des Bactéries nourricières se fait trop vite et gêne le développement. Mais si nous transportons une parcelle de ce plasmode sur un milieu plus maigre, c'est-à-dire moins favorable au développement de *Bacillus luteus* (gélose par exemple), il s'épanouit bien vite et aboutit à une fructification normale et abondante.

Nous voyons alors que cette Bactérie qui, d'après les auteurs mentionnés ci-dessus, serait si indispensable à la germination des

---

(1) Celles qui avaient résisté à la chaleur.

spores et au développement complet du Myxomycète, devient parfois défavorable et dangereuse pour celui-ci.

Il se fait donc, dans ces conditions, une lutte entre le plasmode en évolution et les Bactéries : si celles-ci sont en très grand nombre et bien nourries, elles prennent le dessus et détruisent finalement leur ennemi, le plasmode. Cette destruction se fait de la façon suivante : le plasmode se contracte tout d'abord en une masse sphérique et il est ensuite attaqué directement par de très nombreuses Bactéries, qui le désagrègent en petits morceaux, lesquels à leur tour sont attaqués et complètement détruits.

Le *Didymium* ne se développe pas sur la carotte, qui présente un milieu hypertonique. Les spores ne germent pas sur ce milieu, malgré l'existence des Bactéries ; mais si nous rendons ce milieu hypotonique par addition d'eau, les spores germent et les plasmodes ne tardent pas à apparaître.

Le milieu de choix est constitué par quelques tiges de foin : les plasmodes qui se forment dans le liquide, grimpent le long des tiges et évitent ainsi l'attaque des Bactéries qui restent exclusivement cantonnées dans le fond du tube.

Les sporanges n'ont pas la même structure dans les différents milieux : sur le foin ils sont de taille plus grande et sont portés par des pieds plus longs que sur gélose.

Le bouillon de bœuf empêche toute fructification ; sur gélose au bouillon, les spores germent, il se forme des plasmodes, mais ceux-ci, arrivés à la partie supérieure de la gélose, arrêtent leur évolution et finalement meurent sans fructifier, tandis que des cultures-témoins sur gélose au foin fructifient à coup sûr. Là encore, il faut attribuer l'insuccès au trop grand développement des Bactéries. C'est encore une preuve permettant de constater qu'une quantité modérée de Bactéries favorise la vie du plasmode, tandis qu'une quantité excessive l'empêche et provoque la mort.

*Température.* — La chaleur exerce, elle aussi, une influence très marquée sur l'évolution du *Didymium nigripes*. C'est une espèce qui ne supporte pas une haute température.

Nous avons préparé cinq séries de cultures de *Didymium nigripes* sur gélose au foin dans des tubes à l'essai : séries A. B. C. D. E.

La série A était placée à la température de 1° à 2° et les spores n'ont pas germé.

La série B était placée à la température de 2° à 4°, les spores ont germé trois semaines après l'ensemencement ; puis, peu à peu, il s'est formé un très beau plasmode, d'un aspect vigoureux et ayant de très nombreuses ramifications. La fructification eu lieu

trente jours après l'ensemencement des spores ; les sporanges ont été très abondants, leurs têtes grandes, bien sphériques et portées par de longs pieds ; les spores sont aussi bien régulières et possèdent une membrane très épaisse.

La série C a été placée à la température de 8° à 10°. La culture aboutit aux mêmes résultats, avec cette seule différence que la fructification se fait au bout de quinze jours au lieu de trente.

La série D a été placée à la température de 18° à 20°. Les spores ont germé deux heures après l'ensemencement. De nombreux plasmodes, mais moins vigoureux que les cultures précédentes, sont apparus trois jours après et se sont transformés en sporanges huit jours après l'ensemencement des spores. Ces sporanges ont un aspect tout à fait particulier : les têtes sont dépourvues de calcaire et elles sont par conséquent complètement noires ; les pieds sont très courts et les têtes touchent presque la surface de la gélose. La paroi des sporanges est très mince. Les spores, elles aussi, présentent un aspect curieux : elles sont de tailles différentes ; beaucoup d'entre elles mesurent 4  $\mu$ , d'autres 6  $\mu$ , d'autres encore davantage et il y en a beaucoup qui arrivent jusqu'à 20  $\mu$ . Ces dernières ont des contours irréguliers et leur paroi est très fine et claire (1). Mises dans l'eau ces spores germent très facilement, grâce à la minceur de leur paroi, en donnant d'énormes zoospores possédant chacune un seul noyau et ayant souvent deux cils vibratiles (2). Le capillitium change lui aussi de structure : ses ramifications sont plus épaisses, les boucliers remplis de concrétions calcaires sont très épais et très nombreux. Nous voyons donc que la masse calcaire, au lieu de se déposer à la partie externe des sporanges, s'accumule dans les nœuds du capillitium.

La série E a été placée à la température de 22°. Il s'est formé un plasmode, mais très pâle et de taille très petite ; après une courte vie, il a disparu sans aboutir à la fructification.

La série F a été placée à la température de 25°. Les spores n'ont pas germé, malgré le développement abondant des Bactéries.

---

(1) La minceur de la paroi de ces spores permet la coloration directe du protoplasme et du noyau par le procédé habituel : hématoxyline au fer et vert lumière.

(2) Si la culture-fille contenant ces myxamibes géantes est placée à la température ordinaire (10°-15°), il se forme un plasmode normal qui aboutit à une fructification normale. Mais si nous persistons à cultiver les spores de cette nouvelle génération à la même température, c'est-à-dire à 20°, le développement aboutit à un faible plasmode qui finalement disparaît sans fructifier.

Nous voyons que la chaleur peut constituer un facteur tératologique ; elle peut déterminer l'apparition de formes bizarres, qui ne rappellent en rien les formes dont elles proviennent.

Nous nous demandons si les différentes espèces de Myxomycètes dont les fruits possèdent la forme d'un plasmodiocarpe ne proviendraient pas de formes plus évoluées, c. à. d. munies d'un pied, sous l'influence de la chaleur ?

A l'appui de cette hypothèse concernant l'influence des conditions extérieures sur l'évolution des Myxomycètes, nous apportons un argument basé sur l'expérience suivante : pour avoir le matériel frais nécessaire à nos expériences, nous reproduisons le *Didymium nigripes*, depuis quatre années sur la gélose au foin. Le Myxomycète souche de nos cultures, provenait d'un morceau de bois pourri ; or, les cultures que nous possédons actuellement sont incapables de pousser sur le même bois pourri et nous sommes ainsi amené à conclure à un phénomène d'adaptation.

*Influence d'une action mécanique.* — Nous avons remarqué plusieurs fois qu'un plasmode dérangé avec une aiguille se met immédiatement en fructification, sans que nous puissions savoir la raison de ce fait. Nous avons transporté plusieurs fois des parcelles d'un plasmode en pleine évolution dans des tubes en verre stérilisé et ces morceaux de plasmode, que nous avions cru perdus, se sont transformés en sporanges, tandis que le plasmode-mère n'a fructifié que quelques jours après. L'explication de ce fait est, d'après nous, très simple : une parcelle de plasmode transporté dans un endroit sec se débarrasse plus facilement de son eau qu'un grand plasmode (1) et cette dessiccation accélère la fructification.

*Oxygène.* — L'oxygène joue un rôle très important dans le développement du *Didymium nigripes*.

Pour prouver l'importance de l'oxygène dans la vie de ce Myxomycète, nous avons fait deux séries de cultures sur gélose au foin dans des tubes à essai. Les sporesensemencées provenaient du même sporange. Une série de tubes a été hermétiquement fermée à la paraffine ; les tubes d'une autre série ont été seulement bouchés avec du coton.

Ces deux séries de tubes ont été placées à la température de 15°.

Dans les tubes non fermés à la paraffine le développement est normal, tandis que dans les tubes fermés à la paraffine les spores germent, mais toute évolution s'arrête à ce stade là. Chaque masse protoplasmique s'arrondit et devient immobile, immédiatement après sa sortie de la paroi de la spore.

---

(1) Cette perte d'eau est, d'après Harper, une condition de la fructification d'un Myxomycète.

Les Bactéries prennent, pendant ce temps là, un développement normal.

Si cet isolement du Myxomycète dure trop longtemps, les nombreuses masses protoplasmiques deviennent la proie des Bactéries et sont complètement détruites.

On peut facilement observer au microscope les débris de ces myxamibes attaquées par les Bactéries.

Nous avons débouché quelques-uns de ces tubes cinq jours après la germination des spores. Les myxamibes primitives, qui étaient restées jusqu'alors immobiles, reprennent leur vitalité et poursuivent leur évolution normale aboutissant aux plasmodes et aux fructifications. Mais si cet isolement dure plus longtemps (par ex. dix jours) il n'y a pas de développement et les plasmodes n'apparaissent pas.

Nous avons choisi quelques cultures à l'état de plasmodes de la série non bouchée et nous les avons fermées à la paraffine, le développement s'est arrêté ; les plasmodes ont ralenti leurs mouvements, ont pâli, il se sont désagrégés et ont finalement disparu, attaqués par les Bactéries.

Dans une seconde catégorie d'expériences, nous avons employé des tubes de culture de la même longueur mais de deux volumes différents les uns étaient minces et mesuraient un centimètre de diamètre, les seconds étaient gros et mesuraient quatre centimètres de diamètre.

Les spores provenant du même sporange ont étéensemencées dans ces tubes contenant de la gélose au foin. Les cultures préalablement bouchées avec de la paraffine ont été placées à la température de 15.

Les sucres ont germé dans tous les tubes au bout de 3 heures et les Bactéries ont pris un développement normal.

Dans tous les tubes mesurant un centimètre de diamètre, il n'y avait aucune formation apparente de plasmodes. Dans tous les tubes à 4 cm. de diamètre il s'est formé des plasmodes d'une taille médiocre et même plus tardivement que dans les cultures normales.

A ce stade, tout développement s'arrête ; il n'y a pas de fructifications, et les plasmodes disparaissent submergés par les colonies bactériennes. Quelques-unes de ces cultures, débouchées à temps, aboutissent au stade de sporanges.

Etant donné le plus grand volume d'oxygène dans les tubes plus larges, l'évolution a pu aboutir au stade de plasmode, ce qui est le contraire pour les tubes de 1 cm. de largeur où le volume d'oxygène est quatre fois plus petit.

Nos expériences nous permettent de conclure que les Myxomycètes sont de vrais aérobies.

Ces observations peuvent nous conduire à une autre catégorie de conclusions, concernant le rapport entre le Myxomycète et les Bactéries. Nous sommes d'avis qu'entre le Myxomycète en évolution et les Bactéries existe une lutte continuelle ; le Myxomycète, quand les conditions lui sont favorables, sort vainqueur de cette lutte, mais si les conditions manquent, il est vaincu et complètement détruit. Donc il n'y a pas lieu de parler de parasitisme des Myxomycètes sur les Bactéries, comme l'admet Pinoy, celles-ci pouvant se nourrir au détriment des myxamibes, des zoospores et des plasmodes.

*L'humidité.* — Si l'humidité est trop grande, elle devient défavorable au développement normal de *Didymium nigripes*. Dans ces conditions les sporanges changent complètement d'aspect : ils sont dépourvus de pied et leur forme est tout à fait irrégulière, ils nous rappellent la forme des plasmodiocarpes. Les spores elles aussi sont irrégulières et de grandeur différente. Si l'humidité excessive est accompagnée d'une chaleur trop grande, les plasmodes qui ont réussi à se former n'aboutissent à rien et sont finalement détruits par les Bactéries.

*La lumière.* — La lumière exerce une action puissante sur le développement de *Didymium nigripes*. Mais si elle est un agent excitateur des zoospores, des myxamibes et des plasmodes, nous n'avons pas remarqué jusqu'à présent qu'elle exerce son action sur la structure des fructifications.

Les zoospores, les myxamibes, et les plasmodes fuient la lumière. A plusieurs reprises nous avons exposé des plasmodes en évolution sur un porte-objet, à la lumière concentrée par la glace du microscope et nous les avons maintenus pendant un quart d'heure. Dans ces conditions, les courants rythmiques intraplasmatiques se ralentissent progressivement et finalement cessent complètement ; les ramifications passent dans la branche principale du plasmode qui à son tour se contracte et finalement toute la masse plasmatique se transforme en une masse globuleuse et inerte. Si nous supprimons la lumière, la masse contractée reprend ses mouvements et se ramifie comme auparavant. Mais si nous maintenons cette masse protoplasmique contractée dans la lumière concentrée pendant longtemps (12 heures environs) elle jaunit et meurt attaquée par de nombreuses Bactéries.

Nous savons, d'après Harper, que les divisions du noyau ont exclusivement lieu dans l'obscurité maternelle, c'est-à-dire la nuit (1). Voulaient mettre à profit cette affirmation pour *Didymium*

---

(1) Il admet ceci pour les divisions de *Dictyostelium mucoroides*.

*nigripes*, nous fixons toujours nos préparations la nuit pour avoir des caryocinèses. Ensuite, pour pouvoir facilement observer les stades de la copulation des myxamibes, il faut une très faible lumière, autrement celles-ci perdent leur mobilité et se contractent.

*La nourriture de Didymium nigripes.* — La question de la nourriture du *Didymium nigripes*, comme d'ailleurs des autres espèces de Myxomycètes, est l'objet de beaucoup de travaux importants, dont le principal est celui de Pinoy, intitulé : *Rôle des Bactéries dans le développement de certains Myxomycètes* [48].

Dans ce travail Pinoy parle de *Didymium difforme* et de *Didymium effusum*. D'après lui ces deux espèces ne se développent pas sans le concours de Bactéries qui se rapprochent de *Bacillus luteus* Flügge, et à ce propos il dit : « Les tubesensemencés sont laissés à la température du laboratoire. Un petit nombre de tubes, examinés après quelques jours, ne montrent aucune culture ni de Bactéries, ni du Myxomycète. Le plus grand nombre montrent, dès le début, des cultures très variées de Bactéries, d'Amibes, de Flagellates. Enfin d'autres, d'aspect beaucoup plus pur, montrent des zoospores dans l'eau de condensation. Sur ceux-ci on ne tarde pas à voir paraître des plasmodes, puis des appareils sporifères. C'est parmi ces tubes, continue Pinoy, que j'ai pu trouver *Didymium difforme* en culture pure mixte avec une Bactérie. Cette Bactérie isolée et ajoutée aux tubes qui, contenant des spores de *Didymium difforme*, étaient restés stériles, a permis le développement complet de *Didymium difforme* ».

Plus loin Pinoy ajoute : « D'où je conclus que si cette Bactérie n'est pas absolument nécessaire (certaines Bactéries peuvent peut-être jouer le même rôle), du moins elle est très favorable ».

Ici Pinoy est plus réservé que dans son premier travail [46] où il dit notamment que la Bactérie est indispensable non seulement pour la nourriture des zoospores, des myxamibes et des plasmodes, mais aussi pour la germination des spores.

Nous avons démontré plus haut le caractère osmotique de la germination des spores de *Didymium nigripes* et nous avons démontré en plus que les Bactéries ne prennent aucune part dans cette germination.

Les Bactéries sont, dans les conditions naturelles, des compagnons constants des Myxomycètes. Comme elles pullulent abondamment dans le bois pourri, milieu très favorable au développement d'un Myxomycète, beaucoup d'entre elles, qui se sont trouvées accidentellement sur le chemin d'un plasmode et qui n'ont pas été digérées par ce dernier, se fauillent pour ainsi dire

à l'intérieur d'un sporange en formation et subsistent intactes. Un sporange pareil, étant pris en milieu naturel et transporté sur milieu de culture, les Bactéries pénètrent en même temps et s'y développent facilement ; il est impossible de les en séparer. Nous ne connaissons pas, pour le moment, de moyen de purification des spores par la suppression de ces Bactéries ; les moyens indiqués par Pinoy (vapeurs de chloroforme, d'éther, chaleur) ne nous ayant pas donné de résultats positifs.

Donc les Bactéries sont des êtres dont *Didymium nigripes* ne peut se séparer. Quel est leur rôle dans l'évolution de ce dernier ? C'est ce que nous tenons à démontrer.

En regardant attentivement et au microscope une préparation vivante de *Didymium nigripes*, un singulier phénomène frappe nos yeux : à la partie postérieure de presque toutes les zoospores et autour des myxamibes s'accumule une foule de Bactéries. Cette accumulation se fait dans les endroits les plus proches des vacuoles. Les Bactéries semblent être attirées par les zoospores et myxamibes ; beaucoup d'entre elles s'accrochent même intimement au corps de ces dernières. Nous admettons que ce sont des excréments vacuolaires qui attirent les Bactéries. Nous avons remarqué, en effet, que les colonies bactériennes sont plus riches quand elles sont en association avec les éléments de multiplication du Myxomycète (zoospores, myxamibes et plasmodes) que quand elles sont toutes seules. Donc les excréments de ces éléments favorisent le développement des Bactéries.

Nous savons d'autre part que les Bactéries servent de nourriture au *Didymium nigripes*.

Mais si la quantité des Bactéries est trop grande, l'évolution du Myxomycète est arrêtée et ses éléments sont détruits.

Pinoy admet que le *Didymium nigripes*, vit, au cours de son développement, en parasite sur les colonies bactériennes. Mais nos observations, présentées ci-dessus, ne paraissent pas confirmer ce point de vue ; le Myxomycète, s'il vivait vraiment en parasite sur les colonies bactériennes, ne serait aucunement gêné par leur développement excessif.

Des deux prémisses :

a) le développement du Myxomycète favorise le développement des colonies bactériennes,

b) les Bactéries fournissent un bon aliment au Myxomycète en évolution :

nous pouvons conclure qu'il existe entre les colonies bactériennes et le Myxomycète une association symbiotique.

A l'appui de l'existence de cette symbiose entre les Bactéries et les Myxomycètes, nous pourrions fournir un autre argument.

Tout fait supposer que la couleur d'un plasmode est due à la matière colorante que sécrète la Bactérie associée. Par exemple, la couleur jaune de *Didymium nigripes*, il la faut attribuer à la sécrétion jaune de *Bacillus luteus*, qui est associé de cette espèce dans les conditions naturelles ; nous avons remarqué d'autre part que la Bactérie qui accompagne les différentes espèces de Myxomycètes à plasmode jaune est toujours *Bacillus luteus*. La couleur blanche laiteuse des myxamibes et des fructifications de *Dictyostelium mucoroides*, il la faut attribuer aux sécrétions de *Bacillus fluorescens* var. *liquefaciens*, espèce complètement blanche. La couleur violette des fructifications de *Dictyostelium violaceum* est attribuable à la couleur violette (violacéine) des sécrétions de *Bacillus violaceus*.

Nous savons d'autre part que, dans la nature, sur un même tronc d'arbre pourri, peuvent se développer différentes espèces de Myxomycètes, à différentes couleurs de plasmodies. Sur le même tronc d'arbre vivent plusieurs espèces de Bactéries. Si nous examinons les sporanges de ces différents groupes des Myxomycètes, nous remarquerons que chaque groupe est accompagné par une Bactérie différente de celle qui accompagne un autre groupe de Myxomycètes. Il y a donc, pour ainsi dire, entre les différentes espèces de Bactéries et les différents Myxomycètes, une association sélective, une telle espèce bactérienne s'associant avec une telle espèce de Myxomycète et ne s'associant pas avec une autre.

Les Bactéries ne constituent pas l'alimentation exclusive de *Didymium nigripes* ; celui-ci se nourrit de Bactéries qu'il rencontre par hasard sur son chemin ; mais quand celles-ci font un peu défaut, il peut se nourrir aux dépens du substratum sur lequel il se développe. Pour le prouver nous avons fait une série d'expériences.

Nous avons semé un très petit nombre de spores de *Didymium nigripes* dans l'eau de condensation de tubes contenant de la gélose au foin. Les premiers stades du développement (germination des spores, formation des myxamibes et des plasmodies) se font précisément dans cette eau de condensation. Ces éléments du Myxomycète en évolution se nourrissent de Bactéries. Mais peu à peu les petits plasmodies grimpent vers le haut et finalement ils quittent complètement l'eau de condensation. Ils vont se promener sur toute la surface de la gélose, laquelle est complètement pure, c'est-à-dire ne présente aucune colonie bactérienne. Au début de leur promenade les jeunes plasmodies se nourrissent de Bactéries qu'ils ont emportées dans leur vacuole ou qui se sont attachées à leur corps. Mais quand celles-ci sont digérées, comme le plasmode n'en rencontre pas d'autres, il se nourrit aux dépens du milieu, c'est-à-dire

qu'il mange la gélose. Il est facile de constater, après le passage du plasmode l'empreinte de la forme du plasmode. Un plasmode, pareil peut se nourrir de gélose jusqu'à la fructification, laquelle est tout à fait normale et ne diffère ni au point de vue de la forme extérieure, ni au point de vue de la structure interne, des fructifications habituelles.

Un fait singulier nous a frappé, qui confirme notre thèse. Dans beaucoup de nos cultures se sont introduits des germes de *Penicillium*, qui ont donné d'abondantes cultures sur presque toute la surface de la gélose, avant même la formation des plasmodes au fond du tube dans l'eau de condensation. Ces plasmodes une fois formés montent vers le haut. En rencontrant une agglomération de *Penicillium*, il s'arrête devant elle et peu à peu il l'entoure complètement. Au bout d'un certain temps nous avons pu apercevoir que la colonie de *Penicillium*, avait diminué et que le volume du plasmode avait augmenté. Après deux jours le champignon est complètement détruit ; on voit s'étaler sur son emplacement le plasmode qui, ayant fini de manger les filaments aériens, s'enfonce dans la gélose pour détruire les filaments immergés dans la profondeur de celle-ci. Quand tout est mangé le plasmode s'en va et s'il rencontre une nouvelle agglomération, il effectue la même opération. Nous possédons des cultures dans lesquelles le plasmode a complètement nettoyé la surface de la gélose qui avait été couverte toute entière d'agglomérations de *Penicillium*. Quand le plasmode (ou les plasmodes) montent à la partie supérieure de la gélose pour y fructifier, il reste sur toute la surface de celle-ci de nombreuses excavations, emplacements des ramifications du champignon et où ont passé les plasmodes au cours de leur évolution. Nous voyons donc que la Bactérie n'est pas un aliment exclusif des Myxomycètes : ceux-ci se nourrissent de tous les microorganismes qu'ils rencontrent sur leur chemin et quand ceux-ci leur font défaut ils peuvent même tirer leur alimentation du substratum (sucre et sels).

En regardant au microscope un plasmode issu d'un semis sur lame, il est facile d'observer un fait très caractéristique : ce plasmode, quand il est en plein développement, ne prend pas seulement les Bactéries voisines, il saisit aussi les spores qui n'ont pas germé, et même les zoospores et les myxamibes attardées dans leur développement et qui n'ont pas pu se fusionner avec d'autres pour former des plasmodes. On peut suivre tous les stades de leur digestion progressive dans les vacuoles du plasmode (*Fig. 29, pl. I*).

## E. — ETUDE DE *DICTYOSTELIUM MUCOROIDES*

*Dictyostelium mucoroides* est un Myxomycète de la famille des Acrasiées. Il pousse à l'état naturel sur les objets pourris, comme par exemple sur pomme de terre, sur oignon ou sur des crottins d'animaux.

Le sporange de *D. mucoroides* se compose d'une tête sphérique, incolore et sans membrane, c'est une goutte muqueuse, hyaline, dans laquelle baignent de nombreuses spores; quand le sporange vieillit, sa tête devient blanche et opaque. Cette tête est supportée par un pied composé de cellules polyédriques, irrégulières, grandes à la base et très fines à la partie supérieure.

Dans le mucus du sporange, à côté des spores, il y a de nombreuses Bactéries. Nous les avons séparées par la même méthode que Pinoy [48], c'est-à-dire en boîtes de Petri sur gélatine ordinaire, et nous avons reconnu qu'elles appartiennent à une même espèce.

Cette Bactérie est mobile et mesure 1 à 2  $\mu$  de longueur; elle liquéfie la gélatine. Le bouillon et les infusions de foin contenant cette Bactérie se troublent rapidement: il se forme, à leur surface, un voile assez épais, qui servira, comme nous le verrons plus tard, de base aux sporanges de *D. mucoroides*, dont les spores ont été préalablementensemencées dans ces liqueurs.

L'identité de ses caractères avec ceux qu'a définis Pinoy nous met en présence de *Bacillus fluorescens* var. *liquefaciens* (de Flügge).

a) *Spore*. — Les spores sont elliptiques et de différentes dimensions: les unes mesurent 4 sur 2  $\mu$ , les autres 5 sur 3  $\mu$ ,

La grandeur des spores est en corrélation avec le milieu sur lequel se développent les Myxomycètes. Ainsi, les spores provenant d'une culture sur carotte sont plus grandes que les spores provenant d'une culture sur gélose. Mais il y a inégalité même dans les spores d'un même sporange.

Les spores du *Didymium mucoroides* sont complètement lisses.

b) *Conditions de la germination*. — Relativement à la germination des spores de *D. mucoroides*, nous avons appliqué la même série d'expériences que pour *Didymium nigripes* et nous sommes arrivé à la conclusion qu'ici aussi la germination n'est qu'un phénomène osmotique.

Nous sommes encore une fois en opposition avec Pinoy, pour qui l'agent de la germination des spores de *D. mucoroides* est le *Bacille fluorescent*. A ce propos, il dit [48]: « J'ai mis à profit le

fait que le *Bacillus fluorescens* associé était tué en milieu humide à une température de 50° prolongée pendant une heure. Dans les mêmes conditions, 80 % des spores de *D. mucoroides* sont encore capables de germer. »

« Il est possible aussi de purifier les spores de *D. mucoroides* par un chauffage de 2' à 56°. On les met en suspension dans l'eau ordinaire et on renferme le tout dans des tubes capillaires. Les spores un peu âgées, d'au moins huit jours, sont les plus résistantes. »

« Des spores ainsi purifiées peuvent être mises sur tous les milieux de culture et ne germent jamais. Elles ne germent que si on leur adjoint une Bactérie convenable. On vérifie ainsi d'une manière absolue que les spores de *D. mucoroides* ne germent qu'en présence d'une Bactérie ».

Il est évident que pour démontrer qu'une Bactérie est nécessaire à la germination des spores, il faut tout d'abord faire une *séparation complète* de celles-ci d'avec les Bactéries et ensuite démontrer comment agissent les Bactéries adjointes aux spores complètement pures. Les expériences de Pinoy répondent seulement à la première condition : il sépare les Bactéries des spores par le moyen de la chaleur, mais il ne dit pas ensuite par quel moyen les Bactéries provoquent la germination des spores.

Nous, de notre côté, en voulant mettre au point la question de la germination des spores de *D. mucoroides*, avons tout d'abord voulu nous rendre compte des résultats obtenus par Pinoy. Nous avons répété ses expériences, mais elles nous ont donné des résultats complètement différents.

Nous avons préparé plusieurs séries de culture sur gélose au foin et sur tranches de carotte : soit séries *a*, *b*, *c*, *d*, *e*.

Nous avons placé la série des cultures (*a*) à la température de 15°. Les fructifications ont apparu dix jours plus tard.

La série *b* a été placée à l'étuve à la température de 20°; au bout de six jours, nous avons pu observer de belles fructifications et plus abondantes que dans la série *a*.

La série *c* a été placée à 38°. Il s'est fait un beau développement de Bactéries, les spores ont germé et les myxamibes issues de cette germination se sont enkystées. Au bout de quinze jours, quelques-unes des cultures ont été placées à la température ordinaire (15°) et les fructifications n'ont pas tardé à apparaître; les cultures restées à la température de 38° n'ont pas donné de fructifications.

La série *d* a été placée à 50°. Au bout d'une heure, nous avons enlevé quelques cultures et les avons placées à la température ordinaire. Dans ces nouvelles conditions, les Bactéries se sont

développées, comme d'habitude; les spores ont germé et le développement s'est fait d'une façon normale jusqu'à la fructification, qui donne, il faut le dire, des résultats assez médiocres. Au bout de trois heures, l'autre portion des cultures a été ramenée à la température ordinaire; il se fit un bon développement des Bactéries, mais la fructification de *D. mucoroides* ne se produisit pas.

La série *e* a été placée à la température de 55°. Dans ces conditions il n'y eut aucun développement, ni de Bactéries, ni de *Diclyostelium*. Les cultures ramenées au bout d'une heure à la température ordinaire, sont restées complètement stériles.

Nous pouvons tirer de ces expériences deux conclusions :

a) Les spores de *D. mucoroides* sont plus fragiles que les Bactéries, et résistent par conséquent moins à la chaleur que ces dernières;

b) Au lieu de débarrasser des Bactéries les spores par le moyen de la chaleur, nous sommes arrivé au résultat tout à fait contraire : nous avons débarrassé des spores les Bactéries.

Il n'y a pas, d'après nous, moyen de détruire, par l'action de la chaleur, les Bactéries sans endommager ou sans détruire complètement les spores.

Donc, il n'est pas démontré que les Bactéries jouent un rôle dans la germination des spores de *D. mucoroides*.

Sans pouvoir complètement isoler des Bactéries les spores, nous avons tâché, dans une série d'expériences, de rendre tout au moins le plus faible possible l'action des Bactéries sur les spores. Pour cela nous avons dilué dans quelques centimètres cubes d'eau distillée et stérilisée, une tête de sporange de *D. mucoroides*; après avoir remué fortement le tout, de façon que les spores et les Bactéries qui les accompagnent furent complètement isolées et réparties d'une manière homogène, nous avons aseptiquement dilué à nouveau un peu de cette première dilution et nous avons recouvert une goutte très diluée avec une lamelle flambée supportée par 4 boules de cire stérilisée. Une pareille préparation nous permet d'évaluer le nombre des spores se trouvant dans l'eau et la quantité approximative des Bactéries, qui sont d'ailleurs très peu nombreuses.

Un tel milieu dépourvu de principes nutritifs est très peu favorable au développement des Bactéries; le nombre de celles-ci n'augmente pas, et en conséquence elles ne peuvent exercer, dans ces conditions, aucune influence sur les spores, ni directement, ni par les sécrétions.

Si nous cultivons le *Bacillus fluorescens* dans une solution sucrée, celle-ci se trouble au bout de vingt-quatre heures à la température de 25°. A la même température une culture de Bacille

dans de l'eau stérilisée et distillée garde indéfiniment sa clarté primitive : cela veut dire que les Bactéries n'ont pas augmenté en nombre et n'ont émis aucune sécrétion dans ce milieu qui leur est défavorable.

Or, que deviennent les spores dans les conditions de l'expérience rapportée ci-dessus ? Elles ne tardent pas à germer. Ceci nous permet d'affirmer que la germination s'est faite sans influence, directe ou indirecte, des Bactéries et qu'elle est un phénomène purement osmotique.

Nous pouvons appuyer cette conclusion par une série d'expériences analogues à celle que nous avons appliquée au *Didymium nigripes*. Nous établissons plusieurs semences de *D. mucoroides* sur lames, dans des solutions sucrées (glucose) à différents pourcentages. Ici l'influence de ces solutions sur les spores est très difficile à observer, plus difficile que pour le *Didymium nigripes* à cause de la petitesse des spores et à cause de leur transparence.

Nous sommes obligé d'opérer par tâtonnements pour déterminer *grosso modo* le pourcentage du sucre correspondant à une solution hypotonique, une solution isotonique et une solution hypertonique. Un grand nombre d'ensemencements de spores de *Dictyostelium* sont pour cela nécessaires.

La première observation que nous avons faite, c'est que le pouvoir osmotique des spores de *D. mucoroides* est plus grand que celui des spores de *Didymium nigripes*. La preuve évidente en est déjà fournie par le résultat que donne l'ensemencement des spores de ces deux espèces sur tranches de carotte : les premières germent bien et fournissent de très belles fructifications ; les secondes ne germent plus du tout.

Nous avons essayé une série de solutions sucrées pour connaître les limites du pouvoir germinatif des spores de *D. mucoroides*.

Jusqu'à 25 % les spores germent (solution hypotonique). Au delà la germination ne se fait pas ; mais les spores gardent leur pouvoir germinatif, car si nous remplaçons la solution sucrée par de l'eau pure ou par une solution moins concentrée, les spores ne tardent pas à germer. La solution isotonique est donc 26 % ; dépassé cette limite, la solution devient hypertonique : les spores ensemencées dans cette solution y subissent une plasmolyse progressive. Quand la solution sucrée atteint 35 % les spores meurent.

c) *Germination de la spore*. — La masse protoplasmique sortie de la membrane ne s'arrondit pas immédiatement après, comme chez le *Didymium* ; elle se met tout de suite en mouvement à l'aide de ses pseudopodes. C'est une véritable myxamibe : il n'y a jamais de stade zoospore chez *D. mucoroides*.

Les myxamibes se mettent aussitôt à la recherche de la nourriture, qui dans le cas normal est le *Bacille fluorescent*. Si la semence a été faite dans l'eau pure, distillée, le développement de cette Bactérie est infiniment faible et ne suffit pas pour nourrir les myxamibes nouvellement nées, qui sont d'ailleurs très gourmandes. Celles-ci privées de nourriture ne tardent pas à s'enkyster.

Mais remplaçons l'eau distillée dans laquelle ont germé les spores par une solution sucrée, nous remarquons que les Bactéries, d'abord rares, prennent un développement abondant, et fournissent ainsi la nourriture aux myxamibes d'abord contractées; celles-ci reprennent immédiatement leur vitalité, s'emparent de Bactéries et passent par tous les stades de développement normal. Mais il faut ajouter que, tandis que les Bactéries prennent un développement abondant sous l'influence du sucre, les myxamibes se réveillent *en même temps* et acquièrent leurs mouvements habituels. Il est visible que cette résurrection des myxamibes ne se fait pas sous l'influence des Bactéries, mais sous l'influence de la matière sucrée.

En résumé les Bactéries ne jouent dans l'évolution de *D. mucoroides*, qu'un rôle alimentaire occasionnel : elles ne prennent aucune part à la germination des spores.

d) *Influence des facteurs extérieurs et en particulier du milieu nutritif sur le développement de D. mucoroides.* — Le *D. mucoroides* se développe le mieux, comme nous avons dit plus haut, sur tranches de carotte, moins bien sur la gélose à l'infusion de foin 10 %, et ne se développe pas du tout sur le bois pourri et sur les tranches de pommes de terre.

Un phénomène observé au cours de nos recherches nous paraît avoir beaucoup d'importance. D'après la conception que les Bactéries présentent une nourriture choisie et unique de *D. mucoroides*, le substratum sur lequel se développe ce Myxomycète ne doit jouer aucune influence sur son évolution. Et nous nous demandons tout de suite pourquoi il n'y a pas de développement de *D. mucoroides* sur pomme de terre par exemple, milieu sur lequel le *Bacillus fluorescens* se développe très bien? Pourquoi les fructifications de *D. mucoroides* sont-elles faibles sur gélose au foin, moins faibles que sur carotte, malgré le développement luxuriant des *Bacillus fluorescens*? Nous sommes en droit de supposer dans le jus de carotte l'existence de certaines substances que le Myxomycète puise au cours de son développement et qui manque aux autres substratums. Si nous diluons le jus de carotte, le développement est plus faible et les fructifications moins abondantes (toujours malgré l'existence de nombreuses Bactéries).

En nous basant sur ces faits nous pouvons induire une conclu-

sion de la même nature concernant les autres Myxomycètes qui ne se développent pas en milieu artificiel. Nous savons que la plupart des Myxomycètes, dans les conditions artificielles, ne montrent que les premiers stades de développement malgré le développement normal et abondant des Bactéries associées. Les spores germent, la nourriture abondante est assurée par les Bactéries présentes, enfin toutes conditions sont apparemment réalisées pour le développement normal du Myxomycète, et cependant, malgré tout, ce développement s'arrête. Nous admettons que la cause directe de cet arrêt de développement est l'absence d'une certaine substance existant dans le substratum naturel et non dans le substratum artificiel, et dont nous ne connaissons pas encore la nature. Exemple : *Ceratiomyxa fruticulosa* est une de ces espèces qui n'aboutissent jamais au stade sporange sur substratum identique à celui sur lequel se développe très bien *Didymium nigripes* et *Dictyostelium mucoroides*, malgré le développement de la Bactérie même qui accompagne toujours ce Myxomycète dans le milieu naturel. Tout développement s'arrête au stade des petites zoospores qui proviennent de la double division de la masse protoplasmique primitive à quatre noyaux. Il est évident que si ce développement ne peut pas aller plus loin c'est parce qu'il lui manque une condition qui, d'après nous, est une substance inconnue qui se trouve dans le bois pourri et qui manque dans le substratum artificiel.

De futures recherches permettront peut-être de déterminer cette substance, ce qui mettra fin aux difficultés empêchant les recherches fructueuses sur la biologie des Myxomycètes.

*Température.* — *Dictyostelium mucoroides* supporte mieux de hautes températures que *Didymium nigripes*.

Nous avons déjà montré l'influence de la température sur le développement de *D. mucoroides*. (Voy. le paragraphe concernant les conditions de la germination des spores de ce Myxomycète, p. 45). Nous voulons ajouter seulement ici qu'une température moyenne de 18° est la plus favorable au développement de *D. mucoroides*, non seulement au point de vue du nombre des sporanges dans une culture, mais aussi au point de vue de la taille des pieds sporifères, des têtes et des spores.

D'autre part, une basse température (6°-8°) convient moins à la germination des spores de *D. mucoroides* qu'à celles des spores de *Didymium nigripes*. Les premières ne germent pas du tout à cette température, tandis que les secondes germent.

*Oxygène.* — L'oxygène joue ici le même rôle que dans le développement de *Didymium nigripes*. *D. mucoroides* est aussi un vrai

aérobie. Nous avons prouvé de la façon suivante l'importance de l'oxygène dans le développement de ce Myxomycète.

Quelques préparations sur lames, contenant les premiers stades de développement, c'est-à-dire des myxamibes, ont été fermées à la paraffine. Au bout de deux heures nous avons pu observer un changement considérable dans l'aspect de ces myxamibes; elles se sont toutes contractées. Dans l'une de ces préparations nous pratiquons à travers la paraffine un petit orifice par lequel nous établissons de nouveau la communication du milieu de culture avec l'air ambiant. Nous remarquons au bout de quelques heures, qu'une grande quantité de myxamibes s'accumulent autour de cet orifice. Certaines d'entre elles sortent même au dehors et ne tardent pas à se transformer en fruits.

Dans les autres préparations restant toujours closes, les myxamibes deviennent jaunâtres (changement caractéristique également des myxamibes de *Didymium nigripes* privées d'air); puis, petit à petit, elles se désagrégent, attaquées par les Bactéries. Finalement nous pouvons voir une grande quantité de petits corpuscules informes d'origine myxamibienne, qui se confondent avec les colonies bactériennes.

Dans une de ces préparations hermétiquement closes, il s'était formé, au moment de la fermeture, une bulle d'air. Or, en examinant dans la suite la préparation, nous avons pu constater un fait curieux : un certain nombre de myxamibes se sont accumulées autour de cette bulle d'air et au bout de quelques jours il s'y est formé, dans l'espace libre et rempli d'air, un petit sporange dont nous avons pu compter les spores ainsi que le nombre de mailles hexagonales formant le pied.

*Humidité.* — Nous avons vu qu'une humidité trop grande empêche la transformation du plasmode de *Didymium nigripes* en sporanges. Pour le *Dictyostelium mucoroides*, il n'en est plus de même : l'humidité paraît n'avoir aucune influence sur les derniers stades de l'évolution de ce Myxomycète. Nous avons commencé des spores de *D. mucoroides* dans une infusion de foin, filtrée, stérilisée et non associée à un milieu solide. Les spores tombent au fond de l'infusion où elles germent. Les myxamibes se portent immédiatement vers le haut à travers tout le liquide, dont la hauteur peut atteindre 10 centimètres. Nous savons d'autre part que le *Bacillus fluorescens* var. *liquefaciens* forme un voile à la partie supérieure du liquide dans lequel il se développe. Les myxamibes profitent de ce voile comme d'un support pour former des sporanges. En regardant de profil une telle culture, on voit, à la partie inférieure du voile, des sortes de flocons gélatineux et ramifiés, qui, examinés de près se montrent constitués par des

myxamibes accolées ; passant à travers le voile, elles se groupent en un seul pied supportant une goutte muqueuse remplie de spores. Nous voyons donc qu'une humidité exagérée du substratum n'empêche pas la formation des sporanges.

D'autre part, l'observation que nous avons rapportée concernant la formation d'un sporange dans une bulle d'air, où l'atmosphère était évidemment saturée de vapeur d'eau, prouve bien qu'une humidité excessive n'a aucune influence fâcheuse sur la formation des fructifications de *D. mucoroides*.

*Lumière.* — La lumière n'a aucune influence sur la germination des spores de *D. mucoroides*. Mais elle exerce une action sensible sur les stades qui succèdent à la germination, c'est-à-dire sur les myxamibes, sur leur division et sur la formation des sporanges.

Plaçons une préparation sur lame dans une lumière envoyée par la glace du microscope : toutes les myxamibes se contractent presque immédiatement. Maintenons cette préparation dans ces conditions pendant douze heures, toutes les myxamibes placées au foyer de la lumière seront tuées et leur protoplasme sera devenu jaune.

La division des myxamibes ne se fait jamais à la lumière ; l'obscurité naturelle lui convient le mieux. Pour avoir de belles caryocinèses, nous avons toujours fixé nos préparations la nuit, comme pour le *Didymium*.

La fructification de *D. mucoroides* se fait toujours dans l'obscurité. Prenons une préparation contenant les amas de myxamibes formés sur le bord de la lamelle en vue d'une fructification et soumettons cette préparation à la lumière envoyée par la glace du microscope : toutes les myxamibes se disperseront au bout de quelques minutes seulement (1), et celles du centre, ne pouvant se sauver à temps, se contracteront. Et si l'action d'une forte lumière persiste indéfiniment, les fructifications ne se formeront jamais.

*Nutrition du Dictyostelium mucoroides.* — Pinoy dans son travail : *Rôle des Bactéries dans le développement de certains Myxomycètes* [48] a démontré d'une façon péremptoire que les myxamibes de *D. mucoroides*, au cours de leur développement, se nourrissent exclusivement de Bactéries : celles-ci introduites dans la vacuole, y sont digérées complètement.

Nous avons répété les expériences de Pinoy et nous sommes arrivés aux mêmes résultats : les myxamibes capturent les Bactéries

---

(1) *Dictyostelium mucoroides* est donc un Myxomycète négativement héliotrope.

à l'aide de leurs pseudopodes et, par le même mécanisme que Felix Le Dantec [35 *bis*] avait observé chez les Amibes, les introduisent à l'intérieur de leur corps où elles sont digérées dans les vacuoles. Cette digestion peut être mise en évidence à l'aide du neutralroth, qui colore en rouge les Bactéries en voie de digestion et les débris provenant de leur destruction. C'est une manipulation très délicate que cette coloration des Bactéries en voie de digestion ; il faut employer une solution peu concentrée de neutralroth et opérer assez vite pour ne pas tuer les myxamibes elles-mêmes.

La technique que nous avons employée pour la coloration des noyaux et du protoplasme, c-à-d. l'hématoxyline-vert-lumière, permet, elle aussi, de démontrer la présence des Bactéries au sein des vacuoles et leur destruction progressive. Les noyaux se colorent en brun foncé, le protoplasme en vert, et comme les vacuoles restent incolores, on peut facilement voir par reflet dans leur intérieur les Bactéries en voie de digestion.

Pinoy admet que *D. mucoroides* vit en parasite sur les colonies bactériennes [48]. Il tire cette conclusion du seul fait que les myxamibes de *D. mucoroides* capturent les Bactéries à l'aide de leurs pseudopodes et les digèrent dans leurs vacuoles. Mais cela suffit-il pour admettre le caractère parasitique de *D. mucoroides* sur les colonies bactériennes ?

Le fait que les fructifications de *D. mucoroides*, comme d'ailleurs celles de tous les Myxomycètes, sont appariées à une espèce déterminée de Bactérie, qui est toujours la même dans les conditions naturelles, pourrait faire supposer tout à fait le contraire, c'est-à-dire que les Bactéries vivent en parasites sur le Myxomycète. Mais nous savons, d'après nos multiples expériences, que les myxamibes de *D. mucoroides* peuvent prendre et digérer non seulement les Bactéries mais aussi d'autres corps se trouvant dans la culture. Nous avons vu des myxamibes prendre, et digérer dans leurs vacuoles des spores non germées de la même espèce, ou encore de la levure de bière ajoutée à la culture. En somme les myxamibes de *D. mucoroides* prennent et digèrent tous les corps vivants qu'elles rencontrent sur leur chemin. Et comme dans les conditions artificielles les Bactéries sont les uniques associées du Myxomycète (c'est même la condition essentielle des *cultures pures mixtes*) les myxamibes sont condamnées à cette unique espèce d'aliment.

A plusieurs reprises, nous avons ajouté à des cultures [pures mixtes, une petite quantité de Levure vivante, qui a pris un beau développement. Or les fructifications de *D. mucoroides* formées sur ce milieu sont plus abondantes et plus vigoureuses que dans les cultures pures mixtes sans Levure (cultures témoins). Il est

donc évident que la Levure favorise mieux que le Bacille fluorescent le développement de *D. mucoroides*. Faut-il admettre pour cela le parasitisme de *D. mucoroides* sur la levure ? Nullement.

D'autre part Pinoy a remarqué que des Bactéries s'agglutinent autour des myxamibes et qu'elle forment parfois de véritables colonies étoilées. A ce propos il dit : « Diaphragmons l'éclairage du microscope et examinons à un fort grossissement à l'immersion ; nous verrons que les Bactéries s'agglutinent autour des myxamibes, se disposent perpendiculairement à leur ectoplasme, ou bien forment à l'entour de petits paquets étoilés ». Et plus loin, à propos des cultures pures mixtes de *Polysphondylium violaceum*, il écrit : « L'agglomération des Bactéries autour des myxamibes de *P. violaceum* est beaucoup plus intense qu'autour de celles de *D. mucoroides* et *D. purpureum* ».

« Presque toujours un grand nombre de Bactéries agglutinées accompagnent les myxamibes lors de la formation de l'appareil sporifère. Ces Bactéries plongées dans la gaine muqueuse qui entoure le pied se placent perpendiculairement aux cellules du pied, si bien qu'à un examen superficiel on pourrait croire le pied hérissé de cristaux. Souvent aussi les Bactéries forment de véritables amas au niveau des ramifications ». Pinoy mentionne ces observations sans aucune interprétation spéciale.

Nous aussi nous avons observé ce phénomène, très fréquent non seulement chez *D. mucoroides* mais chez *Didymium nigripes*. Comme chez ce dernier, ici aussi les Bactéries forment des rosettes autour des myxamibes. Mais il faut remarquer tout de suite que cette agglomération ne se fait pas tout autour de la myxamibe : elle se fait toujours du côté de la vacuole.

Ce fait nous suggère l'hypothèse de la formation d'une sécrétion, inconnue jusqu'à présent, qui attire les Bactéries et favorise leur développement.

D'autre part nous avons remarqué que les Bactéries prennent un plus grand développement en présence de *D. mucoroides* que lorsqu'elles sont seules : ce fait est facile à constater dans les préparations microscopiques sur lames.

En nous basant sur ces faits, fixés au cours de nos recherches, nous pouvons conclure :

a) Au cours de leurs développement, les myxamibes de *D. mucoroides* capturent les Bactéries, telles que le Bacille fluorescent, qui se trouvent dans le milieu ambiant, et les digèrent dans leurs vacuoles ;

b) Les Bactéries s'agglomèrent autour des myxamibes en évo-

lution (chimiotactisme) et leur développement est visiblement meilleur en association avec les myxamibes ;

c) Les myxamibes, quand les conditions deviennent défavorables pour leur développement (manque d'air p. ex.) sont détruites par les Bactéries.

En conséquence, nous sommes en droit de dire qu'il y a, entre *D. mucoroides* et *Bacillus fluorescens*, une véritable association symbiotique.

---

## CHAPITRE II

### Sexualité des Myxomycètes

#### A. — HISTORIQUE

La question de la sexualité des Myxomycètes ne date pas de longues années. Aucun des Mycologues du XIX<sup>e</sup> siècle n'attribuait à la reproduction des Myxomycètes un caractère sexuel : l'opinion générale était qu'ils se reproduisent asexuellement. L'homogénéité des éléments de reproduction (zoospores, myxamibes), faute d'une technique perfectionnée, a empêché pendant long temps d'élucider le caractère sexuel de la reproduction des Myxomycètes.

PINOY le premier esquisse l'idée de la sexualité de ces êtres, dans son article intitulé : « Sur l'existence d'un dimorphisme sexuel chez *Didymium nigripes* [45]. Son étude est exclusivement macroscopique, c-à-d. que l'auteur n'entre dans aucun détail au point de vue microscopique. Il place des semences de *Didymium nigripes* associées avec des *Bacillus luteus*, dans l'étuve à 20°-22°. Des plasmodes blancs grisâtres ne tardent pas à apparaître et les fructifications se forment au bout d'un temps variable (10 à 20 jours).

PINOY rapporte ensuite que quelques tubes présentent les uns des plasmodes d'un jaune plus ou moins orangé, les autres des plasmodes d'un noir violacé, par transparence. Et il dit à ce propos : « Ces plasmodes nous ont donné invariablement des sclérotés et n'ont jamais fructifié. Les sclérotés, qu'ils proviennent d'un plasmode jaune ou d'un plasmode noir, sont toujours violacés par transparence. Ils sont plus clairs, avec un teint jaunâtre pour les plasmodes jaunes ».

Des fragments de ces sclérotés peuvent redonner des myxamibes et ensuite des plasmodes jaunes ou des plasmodes noirs, s'ils sont ensemencés sur milieu liquide.

« Si, dit plus loin PINOY, onensemence les sclérotés sur la gélose, c'est-à-dire sur un milieu seulement humide, les masses protoplasmiques sortant des kystes se fusionnent immédiatement, en redonnant, somme toute, le plasmode primitif. Il n'y a pas de multiplication chez *Chondrioderma difforme* et *Didymium effusum*. Nous avons déjà constaté qu'alors que certaines cultures donnaient des fructifications, d'autres, quoique exactement dans

les mêmes conditions, ne donnaient jamais que des sclérotés et nous avons émis l'hypothèse qu'il y avait là sans doute quelque chose d'analogue à ce que Blakeslee avait observé pour les *Mucorinées* et qu'il fallait une fusion de deux plasmodes différents pour que la fructification pût se produire. »

« Ayant isolé deux plasmodes macroscopiquement différents de *Didymium nigripes*, nous les avons placés côte à côte dans un même tube de culture, mais ils ont continué à vivre séparément et il n'y a eu aucune fructification ».

Cette fusion s'accomplit, d'après Pinoy, à un autre stade, ainsi que le montre l'expérience suivante faite par lui : dans le liquide de condensation de 2 tubes de culture, il ensemence dans l'un, des fragments de sclérotés provenant d'un plasmode noir et dans l'autre, des fragments de sclérotés provenant d'un plasmode jaune. Lorsque dans le liquide des 2 tubes ont apparu des myxamibes, avec une pipette Pinoy a prélevé les liquides de condensation des deux tubes et les a mélangés dans un troisième tube. Dans ces conditions, ce troisième tube a, d'après l'auteur, fructifié en dix jours à douze jours, après avoir donné un plasmode blanc grisâtre. Pinoy admet que dans les sporanges de *D. nigripes* il y a des spores (+) et des spores (—). Lorsque dans un tube il n'y a que des spores (+) ou que des spores (—), les plasmodes formés sont (+) ou (—), jaunes dans un cas, noirs dans l'autre. Ces plasmodes ne fructifient pas, mais ils se transforment en sclérotés. L'association de ces deux plasmodes (+) et (—) est indispensable pour qu'il se fasse une fructification.

TORREND, l'année suivante (1909), dans son livre *Flore des Myxomycètes* [57] soulève, d'une façon nette et plus explicite que Pinoy, le problème de la sexualité des Myxomycètes. Donnons les passages essentiels, où sont énoncées les idées de Torrend :

« La multiplication achevée, chaque myxamibe retire son cil vibratile et reprend sa forme et ses mouvements amiboïdes d'auparavant. S'il se fait que deux d'entre eux arrivent à la proximité de 40  $\mu$  environ, ils s'attirent mutuellement et se fusionnent ; à cette masse commune d'autres s'ajoutent successivement et forment comme un centre où viennent fatalement converger les autres. Il arrive parfois que certains résistent à cette attraction de la masse commune, alors ils se contractent en microcystes et ce n'est qu'en cet état qu'ils sont attirés et digérés dans les vacuoles ».

Plus loin Torrend est encore plus explicite : « on n'est pas encore bien fixé sur les causes de cet enkystement, car on l'a vu se former malgré la présence de toutes les conditions d'humidité et d'aliment. Serait-il dû au manque d'élément fécondateur qui devrait lui permettre d'arriver à la sporulation ? Il se pourrait,

mais les phénomènes de fécondation sont encore si obscurs chez les Myxomycètes ! Leur sporulation se fait-elle après autogamie, caryogamie ou chromidiogamie ? »

Nous constatons que Torrend, en émettant ces idées, n'était pas éloigné de la vérité. Et nous pouvons dire, sans aucun préjudice, que Torrend est le premier Mycologue qui ait tracé le véritable plan de recherches sur la sexualité des Myxomycètes.

Un auteur qui a poussé encore plus loin ses études concernant la sexualité des Myxomycètes est JAHN. Dans son important article intitulé « Sexualité » [31], Jahn expose ses recherches sur la sexualité de certains Myxomycètes et surtout de *Badhamia utricularis*, *Didymium difforme*, *Physarum didermoides*. A propos de *Badhamia utricularis*, Jahn dit que cette espèce est très facile à reproduire dans les conditions artificielles. Les éléments de reproduction de cette espèce sont insensibles à la lumière et supportent facilement de basses températures (il a obtenu des fructifications à la température de 8° C).

En étudiant cette espèce au point de vue du développement, Jahn dit qu'une spore en germant donne une zoospore haploïde, laquelle ne tarde pas à se diviser. Les zoospores-filles provenant de plusieurs divisions perdent leurs cils vibratiles et se transforment en myxamibes. Les myxamibes se divisent à leur tour et s'accollent ensuite par plusieurs en donnant des plasmodes. Les noyaux du nouveau plasmode gardent leur caractère haploïde. Il est probable, dit Jahn, que ces noyaux continuent à se diviser au cours de la vie végétative du plasmode. Quand le moment de la fructification approche, les noyaux se placent deux par deux et se fusionnent. Peu de temps avant la formation des spores, après la constitution de la forme générale du sporange, les noyaux deviennent de nouveau haploïdes par une division réductrice et ils passent sous cette forme dans les spores.

La division des noyaux d'un plasmode en croissance est mitotique ; Jahn n'a jamais vu de divisions directes des noyaux. Mais ce qui est curieux, c'est que Jahn dit plus tard que la fusion des noyaux d'un plasmode dans la période de fructification (chez *Badhamia utricularis*) est le résultat de leur dégénérescence, ce qu'il considérerait au commencement comme un acte sexuel. Il dénomme ces noyaux « noyaux végétatifs » et il les compare aux noyaux végétatifs des autres plantes supérieures, qui au moment de la fructification disparaissent. Ces noyaux végétatifs se confondent avec les noyaux normaux dans les courants protoplasmiques et finalement se dissolvent.

En somme, nous ne savons pas quel rôle jouent ces noyaux fusionnés et soi-disant en dégénérescence ; d'autre part d'où pro-

viennent les noyaux normaux, sont-ils haploïdes ou diploïdes? Jahn n'en parle pas.

S'occupant ensuite de *Didymium nigripes*, Jahn souligne la facilité avec laquelle cette espèce germe, mais il ajoute : les zoospores qui proviennent de cette germination ne forment pas de plasmodes dans le milieu liquide, ou du moins ils en forment très rarement.

L'espèce qui a fourni à Jahn les meilleurs résultats est *Physarum didermoides*, décrit déjà avant lui par J. C. Constantineanu [12]. Les spores de cette espèce germent très vite dans une infusion de fumier ou dans le bouillon de grain de Maïs. Les plasmodes apparaissent au bout de 2 à 3 jours. Les zoospores sont sensibles seulement aux produits de la transformation du milieu nutritif causée par les Bactéries. Pour éviter une transformation trop rapide des zoospores en cystes, Jahn dit qu'il est nécessaire que soient présents certains Flagellés, par ex. *Capromonas*, qui empêchent le développement des Bactéries et servent en même temps de nourriture aux myxamibes.

Jahn suppose que les zoospores perdent leurs cils au moment de la première division, en donnant ainsi des myxamibes qui continuent à se diviser. Il a constaté en outre qu'une myxamibe passe par 3-4 divisions successives avant de pouvoir former un plasmode. Finalement il a pu observer un grand nombre de petits plasmodes indépendants les uns des autres au milieu de nombreuses myxamibes ; dans une goutte d'eau il aurait pu compter une centaine de petits plasmodes [31].

Les jeunes plasmodes peuvent saisir les myxamibes non accouplées et les digérer dans leurs vacuoles, qui sont très nombreuses à ce moment-là.

Deux jeunes plasmodes peuvent se fusionner en un seul, Jahn admet que la rencontre de deux plasmodes est purement accidentelle et qu'il n'y a pas d'attraction spéciale entre eux. Un plasmode est le résultat de la fusion de deux myxamibes haploïdes ; donc il est diploïde. Le noyau du jeune plasmode provenant de la fusion de ces deux myxamibes haploïdes se divise à son tour au sein de la masse protoplasmique. Mais si Jahn a pu observer les stades de la division des myxamibes, il n'a pas pu voir la division des noyaux des jeunes plasmodes. Il distingue des myxamibes non accouplées les jeunes plasmodes uninucléaires grâce aux nombreuses et grandes vacuoles que ces derniers possèdent au cours de leur évolution. Il ne connaît pas d'autre moyen de faire cette distinction entre les myxamibes et les plasmodes jeunes.

En somme, les notions qui résultent des recherches de Jahn sont incomplètes et confuses : il y avait lieu de reprendre cette question.

## B. — ETUDE DE LA SEXUALITÉ DE *DIDYMIUM NIGRIPES*

Pour étudier la sexualité de *Didymium nigripes*, nous avons employé la même technique que pour les recherches concernant la biologie de cette espèce. Nous l'avons étudiée *in vivo* et sur des préparations fixées et colorées : fixation par le picroformol de Bouin, mordantage par l'alun de fer à 3 % et coloration par l'hématoxyline et le vert-lumière, tel est le procédé qui nous a donné les meilleurs résultats.

Pour étudier tous les stades par lesquels passe *Didymium nigripes*, depuis la germination des spores jusqu'à la formation des fruits, nous nous sommes servi de lames et de lamelles petites (5 m/m de côté) : comme milieux de culture, nous avons employé l'eau de condensation de la gélose au foin à 10 %, ou une infusion de foin à 10 % ; ce milieu, qui ne favorise pas trop le développement des Bactéries, est le milieu de choix.

A la température du laboratoire, la spore germe au bout de quelques heures ; la masse protoplasmique sortant de la membrane cellulosique est d'abord informe et immobile, mais peu à peu apparaît, au voisinage du noyau, un cil vibratile, d'abord très court, qui s'allonge progressivement dès qu'il commence à battre. En même temps la masse protoplasmique, elle-même, s'allonge et la zoospore ainsi formée s'anime d'un mouvement rapide.

Bientôt le mouvement cesse, le zoospore se fixe sur la lame ou la lamelle et une division longitudinale apparaît, débutant par le cil vibratile et le noyau (1).

Chaque zoospore-fille, après quelques instants d'immobilité, prend une sorte de mouvement fébrile, se déplaçant irrégulièrement et avec rapidité. Les zoospores-filles vont se divisant à leur tour comme les zoospore-mère, et ainsi de suite.

Finalement toutes les zoospores perdent leur cil vibratile et deviennent des myxamibes, qui continuent d'ailleurs à se diviser, ce qui assure la multiplication de l'espèce.

Le passage de la zoospore à la myxamibe est très lent : la zoospore perd tout d'abord ses mouvements agités ; elle se colle ensuite à la paroi de la lame ou de la lamelle ; à partir de ce moment elle perd toute régularité de contour et émet des pseudo-

---

(1) D'après Jahn, cette première division serait une division réductrice. Nous n'avons pas, jusqu'à présent, de preuves bien nettes pour appuyer ou infirmer l'exactitude des idées émises par cet auteur. Toutefois nous pouvons affirmer que les spores sont potentiellement bisexuées ; mais la séparation des sexes se fait-elle à la première division de la zoospore, ou lors d'une des divisions ultérieures ? Nous ne saurions encore préciser ce point.

podés : en l'observant à ce stade, on a l'impression d'être en présence d'une myxamibe munie d'un cil vibratile. Celui-ci rentre peu à peu dans la masse protoplasmique et la zoospore devient définitivement une myxamibe. Nous avons pu, 5 jours après l'ensemencement, compter des centaines de myxamibes, et ce nombre augmente considérablement au cours des journées suivantes, en sorte qu'il devient impossible de dénombrer les myxamibes issues d'une même spore. Au cours de cette multiplication, les myxamibes se nourrissent de Bactéries, représentées habituellement par des espèces mobiles (*Bacillus luteus*, etc.).

Les jeunes myxamibes se déplacent dans le milieu nutritif et finissent par arriver presque toutes à la périphérie de la préparation, par suite du besoin d'oxygène. Ce besoin augmente quand le moment de la copulation approche : on voit alors très bien toutes les myxamibes se grouper au bord de la lamelle et former une traînée compacte dessinant, pour ainsi dire, le contour de cette dernière. Les myxamibes se nourrissent de Bactéries, mais à ce stade les vacuoles sont *peu visibles* ; elles sont *petites et peu transparentes*, et c'est là un fait constant.

Après un certain temps les myxamibes se préparent à une nouvelle phase du développement : on les voit *se grouper par paires et les deux myxamibes d'une même paire, devenues gamètes, se fusionner entre elles*. Nous avons pu constater *ce fait maintes fois et c'est pour nous un point fondamental dans l'histoire du développement de cette espèce*. Nous avons pu constater également qu'une myxamibe ne se fusionne pas avec n'importe quelle autre ; elle se déplace, elle s'approche successivement, puis s'éloigne de plusieurs myxamibes, puis finit par s'unir avec l'une d'entre elles. Nous expliquons ceci en admettant *qu'une myxamibe haploïde d'un sexe, que Pinoy définit par un signe (+) ou (—) (1), cherche une myxamibe d'un sexe différent pour s'unir avec elle*.

Le *Didymium nigripes* possède donc, selon nous, des myxamibes de deux sortes, (+) et (—), provenant, par une série de divisions multiplicatrices, de zoospores (+) et (—), lesquelles proviennent à leur tour de la division avec séparation sexuelle dont nous avons parlé plus haut.

Une myxamibe (+) et une myxamibe (—), en s'unissant, fusionnent leurs protoplasmes et leurs noyaux : il se fait ainsi un *œuf* ou *zygote*, par fusion de deux gamètes libres, mobiles et semblables.

---

(1) Comme nous l'avons vu plus haut, Pinoy attribue ces signes (+) et (—) à des plasmodes de sexes différents, qui par leur fusion donnent un plasmode commun capable de fructifier.

C'est la première fois qu'un tel fait est signalé dans le genre *Didymium* (1).

La fusion des protoplasmes peut être observée sur le vivant ; elle est suivie d'une fusion nucléaire, qu'on ne peut voir directement, mais qu'on peut reconnaître sur les préparations fixées et colorées, en tenant compte des faits suivants :

1° Les noyaux des zoospores et des myxamibes se divisent par caryocinèse : nous avons vérifié le fait deux fois chez les zoospores et nous admettons qu'il en est de même chez les myxamibes, qui ne sont que des zoospores ayant perdu leur cil.

2° Le noyau du zygote se divise aussi par caryocinèse ; nous avons vérifié le fait et nous admettons qu'il en est de même dans les divisions nucléaires ultérieures.

Dès lors lorsqu'on a sous les yeux un individu muni de deux noyaux très rapprochés, souvent même au contact l'un de l'autre, la seule interprétation possible est qu'il s'agit d'un zygote où la fusion nucléaire est sur le point de s'opérer. Nous avons eu sous les yeux de nombreuses figures se rapportant à ce stade ; par conséquent la fusion nucléaire ne fait pour nous aucun doute. (Fig. 24, Pl. I).

Le zygote présente des caractères morphologiques très différents de ceux des myxamibes. Il est plus volumineux, il émet des pseudopodes plus longs, il est plus vacuolisé et les courants protoplasmiques de va-et-vient, qui n'existent pas chez les myxamibes, sont ici très visibles. Ces caractères secondaires permettent, sur le vivant, de distinguer les myxamibes des zygotes.

Cette différence se manifeste encore davantage sur les préparations fixées et colorées à l'hématoxyline vert-lumière. Le noyau d'un zygote est entouré d'une masse protoplasmique en cercle fermé qui se colore en vert foncé, tandis que le reste du protoplasme est coloré en vert clair. Les noyaux des myxamibes ordinaires ne sont jamais entourés d'un cercle semblable, tout le protoplasme se colore de la même façon, c'est-à-dire en vert clair. (Fig. 14, 25 et 26, Pl. I).

Dès la formation du zygote, les vacuoles deviennent grandes et claires ; elles sont pleines de Bactéries en voie de digestion. Ceci paraît en rapport avec la vie végétative très active qui va être celle du zygote devenant plasmode.

La transformation du zygote en plasmode peut se faire par deux processus en apparence différents. Tantôt c'est un simple

---

(1) Jahn a observé la copulation des myxamibes haploïdes, donnant de « petits plasmodies », chez le *Physarum didermoides*. Doflein (14 bis) qualifie ces petits plasmodies de « zygotes ».

accroissement en volume du zygote, dont le noyau se multiplie indéfiniment par caryocinèse; tantôt on voit plusieurs zygotes ou petits plasmodes se fusionner entre eux. Nous considérons ce dernier phénomène comme un simple phénomène physique, attendu qu'il n'y a pas de fusion de noyaux. Grâce à ce double processus, les myxamibes et les petits plasmodes disparaissent des cultures; celles-ci ne renferment plus que de grands plasmodes plurinucléés.

*Cultures monospermes.* — Pour mieux préciser le sens de nos recherches sur la sexualité de *Didymium nigripes*, nous avons fait, à plusieurs reprises, des cultures à partir d'une seule spore, dans les conditions qui viennent d'être dites. La spore en germant donne une masse protoplasmique sphérique, qui ne tarde pas à se transformer en zoospore par acquisition progressive d'un cil vibratile. Cette zoospore subit plusieurs divisions caryocinétiques successives (Fig. 8-12, Pl. I). Les zoospores-filles se transforment en myxamibes par rétraction progressive de leur cil vibratile. Les myxamibes ainsi formées se dressent à leur tour en se dirigeant vers le bord de la préparation. Leurs divisions sont caryocinétiques.

A ce stade les myxamibes se nourrissent abondamment de Bactéries provenant de celles qui ont été transportées dans le milieu de culture en même temps que la spore. Ces Bactéries ont pris un développement assez abondant pour suffire aux besoins nutritifs des myxamibes.

C'est à ce stade de développement que se place le phénomène essentiel de l'évolution du Myxomycète. Les myxamibes se nourrissent abondamment, se déplacent vite et on les voit se grouper par paires; puis les deux myxamibes d'une même paire, devenues gamètes, se fusionnent entre elles, (Fig. 22 et 23, Pl. I), comme nous l'avons dit plus haut.

Nous avons pu également, constater ici, qu'une myxamibe ne se fusionne pas avec n'importe quelle autre myxamibe rencontrée; elle semble en choisir une dans la foule pour se fusionner avec elle.

Nous avons cherché (et réussi à trois fois différentes) à isoler une myxamibe pour la repiquer sur un milieu aseptique et suivre son développement. Cette myxamibe, en continuant à se diviser, donnera-t-elle des éléments susceptibles de devenir gamètes? Jamais dans nos expériences.

De même, nous avons réussi deux fois à isoler une zoospore d'une culture qui en renfermait un grand nombre: or, jamais les myxamibes nombreuses auxquelles elle a donné naissance n'ont fait fonction de gamètes.

Dans les cinq expériences relatées ci-dessus, les myxamibes se sont divisées, ce qui prouve qu'elles sont restées bien vivantes ; mais après quelques divisions, les myxamibes-filles ont arrêté leurs mouvements, sont devenues jaunâtres et finalement sont mortes, sans jamais donner de cellules-gamètes, ni de fructifications, malgré les conditions favorables dans lesquelles elles se trouvaient pour un développement normal.

Pendant ce temps, les cultures qui avaient servi de point de départ et qui renfermaient de nombreux individus, donnaient naissance successivement à des cellules-gamètes, à des œufs ou zygotes, à des plasmodes et finalement à des fructifications.

D'autre part, ayant appris, par une longue expérience, à distinguer, au premier coup d'œil, les zygotes d'avec les autres éléments, nous en avons profité pour isoler un zygote et le repiquer sur une culture où il s'est développé tout seul. Nous avons assisté à sa transformation en plasmode et en transportant ce jeune plasmode dans un tube à gélose au foin, nous avons obtenu, au bout de quelques jours, plusieurs fructifications en sporanges tout à fait normaux.

Il est donc à nos yeux démontré que le *Didymium nigripes* est le siège d'un phénomène sexuel ; que l'œuf (ou zygote) y résulte de la fusion de deux myxamibes-gamètes de signes différents (+) et (—), et que le zygote est l'origine d'un plasmode capable de fructifier en sporange.

Le fait qu'une myxamibe isolée et cultivée à part ne donne ni zygote, ni fructification, est pour nous une preuve irréfutable de l'existence de la sexualité chez le *D. nigripes*. Ajoutons que cette espèce est « homothallique » au sens du mot créé par Blakeslee, puisqu'à partir d'une spore unique on peut obtenir les deux sortes de myxamibes-gamètes et la fructification.

Nous avons déjà vu plus haut que Pinoy attribue un caractère sexuel au développement de *D. nigripes*, mais il l'explique d'une façon tout à fait particulière. Cet auteur admet que, dans un sporange de *D. nigripes*, il y a des spores mâles et des spores femelles, qui, par suite de la germination, donnent des plasmodes mâles et des plasmodes femelles, qu'il distingue par les signes (+) et (—). Pour que la fructification puisse avoir lieu, il faut une fusion de deux plasmodes de signes différents. Nous avons déjà exposé la façon dont il opère le mélange de ces deux éléments (+) et (—).

Ici nous sommes en opposition avec Pinoy. Ce dernier place ses cultures à la température de 20°-22° et il n'obtient dans ces conditions que des sclérotés. C'est tout à fait exact : chaque fois que nous, de notre côté, nous avons placé nos cultures à la tem-

pérature de 20°-22°, nous avons toujours obtenu des sclérotés au lieu de fructifications normales (1). Mais cette formation de sclérotés n'est pour nous qu'un phénomène en quelque sorte physique et n'a rien de commun avec la sexualité du *Myxomycète*. Les sclérotés se forment toujours quand les conditions deviennent défavorables.

Il faut tout de suite se demander ce qu'est un sclérote de *D. nigripes*. C'est, en fait, un sporange dont l'organisation n'a pu s'achever complètement. A 20-22° se forment normalement les sclérotés. Mais abaissons la température jusqu'à 19° : il se formera alors des sclérotés aberrants, l'on distingue déjà un petit pied à peine visible, où la masse encore noire prend une forme déjà un peu plus régulière et où les spores présentent la même particularité que les spores d'un sclérote. Diminuons encore la température, nous verrons les spores se rapprocher davantage encore de la forme des sporanges normaux et ce sont ceux-ci qui se forment presque exclusivement à 12° ou 15°.

Si, au contraire, nous dépassons la température de 22°, les spores germent très vite, et il se forme déjà au bout de trois jours un plasmode; mais après une courte vie ce plasmode disparaît sans donner ni sporange ni sclérote, malgré un développement abondant des Bactéries.

Nous voyons donc que la température de 20-22° reconnue aussi par Pinoy est celle à laquelle se forment toujours des sclérotés capables de redonner des fructifications normales.

Chaque plasmode, quelle que soit sa taille, est capable de donner des sporanges, à condition qu'il ne soit pas troublé au cours de son évolution. Nous l'avons prouvé par trois expériences différentes : a) par isolement et transplantation des zygotes; b) par isolement et transplantation des tout petits plasmodes à peine visible à l'œil nu; c) par transplantation de fragments de plasmode. Tous ces éléments ont évolué d'une façon normale, jusqu'au stade des sporanges.

Ce qui, à nos yeux, constitue la preuve essentielle qu'il n'y a pas de dimorphisme sexuel des plasmodes dans le *Didymium nigripes*, c'est l'obtention des fructifications à partir d'une spore unique. Nos cultures monospermes le montrent d'une façon irréfutable.

Le phénomène sexuel ne se manifeste donc pas par la fusion de deux plasmodes (+) et (—), mais bien par la fusion de deux myxamibes haploïdes (+) et (—), qui donnent par conjugaison

---

(1) Voyez plus haut le chapitre relatif à l'influence de la température sur le développement de *D. nigripes*.

un œuf diploïde (zygote), origine d'un plasmode capable de fructifier.

Les myxamibes qui n'ont pas joué de rôle sexuel sont destinées à disparaître, englobées et digérées par les plasmodes de formation sexuelle. Maintes fois nous avons pu observer des plasmodes capturant, à l'aide de leurs longs pseudopodes, non seulement des myxamibes, mais aussi des zoospores attardées dans leur développement; nous avons même pu reconnaître, à l'intérieur des vacuoles d'un certain plasmode, des myxamibes en voie de digestion (Pl. I, fig. 29). Jahn avait déjà observé des faits semblables [31].

### C. — ETUDE DE LA SEXUALITÉ CHEZ LE *DICTYOSTELIUM MUCOROIDES*

*Dictyostelium mucoroides* est une des espèces de Myxomycètes où les auteurs ont signalé, avec le plus d'insistance, l'absence de toute sexualité.

Guidé par la certitude de l'existence du phénomène sexuel chez les Myxomycètes Endosporés, nous nous sommes appliqué à rechercher des phénomènes analogues chez les Myxomycètes Acrasiés et nous avons réussi à les mettre en évidence.

Pour ces recherches, à la vérité très délicates et difficiles à cause de la petitesse des éléments, nous avons appliqué les mêmes méthodes de culture et d'observation que pour les recherches d'ordre biologique dont nous avons précédemment parlé. En particulier nous avons appliqué le dispositif des lamelles portées par quatre boules de cire stérilisée : ceci permet une aération constante de la culture, nécessaire au développement complet. En vue d'empêcher le développement trop rapide des Bactéries, qui seraient gênantes pour l'observation directe, nous avons employé de l'eau ordinaire stérilisée : le développement s'y fait lentement, les myxamibes sont plus claires, s'étalent mieux à la surface de la lame et se colorent plus facilement.

Les lamelles dont nous nous sommes servi sont de petite taille (5 m/m de côté), ce qui fait que tous les stades de développement sont rassemblés et par conséquent plus facile à observer. Nos recherches ont porté sur le vivant et sur des préparations fixées et colorées à l'hématoxyline-vert-lumière.

La spore de *Dictyostelium mucoroides* germe au bout de quelques heures ou de quelques jours, suivant l'âge de la culture mère. La petite myxamibe au sortir de la spore mesure environ 3  $\mu$  et possède un seul noyau. Elle grandit très vite, à condition

que le milieu de culture lui soit complètement favorable : la taille passe de  $3\ \mu$  à  $6-8\ \mu$  et cet agrandissement ne demande qu'une durée de quelques heures. C'est là une particularité qui n'a jamais été observée par nous chez les Myxomycètes Endosporés.

Les myxamibes en voie d'agrandissement ne se divisent pas : ne faudrait-il pas considérer cette période d'agrandissement comme une période de maturation ?

Quand cette augmentation de volume est réalisée les myxamibes commencent à se diviser. Toujours c'est par caryocinèse : nous n'avons jamais observé de divisions directes des noyaux. Les chromosomes, au nombre de quatre, se colorent par les procédés mentionnés ci-dessus, en noir, les fuseaux en acajou pâle et le cytoplasme en vert. Nous n'avons jamais pu déceler l'existence des asters. Les vacuoles sont très nombreuses et ne prennent aucune coloration (*Fig. 8-15, Pl. II*).

Toutes les myxamibes se dirigent en même temps vers le bord de la préparation, attirées par l'oxygène, et leur évolution s'achève là où doit se faire la fructification. Au fur et à mesure de leur multiplication, les myxamibes deviennent plus vacuolaires, leur cytoplasme plus granuleux, et enfin un grand nombre d'entre elles présentent une forme caractéristique du noyau : c'est un noyau en demi-lune ou en croissant, ayant laissé échapper, du côté de sa face concave, des corpuscules fins et ronds qui se colorent comme la chromatine (1).

En étudiant soigneusement ces corpuscules sur les préparations disposées en séries, nous avons constaté qu'ils disparaissent progressivement, dissous dans le protoplasme ; chez les myxamibes complètement préparées à l'acte d'accouplement, ces corpuscules n'existent plus ou sont déjà en voie de disparition (*Fig. 27-28, Pl. II*).

Nous croyons être là en présence d'un acte de purification ou de préparation du noyau et nous émettons l'hypothèse qu'il s'agit du phénomène de séparation sexuelle précédant l'acte d'accouplement.

A ce stade, les myxamibes ne tardent pas à se grouper deux par deux : elles sont devenues *myxamibes-gamètes*.

Cet accouplement est suivi d'une fusion qui commence par les pseudopodes. L'observation de cette fusion est très difficile, car la moindre lumière l'empêche : la fusion des gamètes, comme la division caryocynétique, ne s'opère qu'à l'obscurité naturelle.

---

(1) Ces formes de noyaux apparaissent quand les divisions caryocinétiques des myxamibes ne se font plus et quand celles-ci sont prêtes à s'accoupler (*Fig. 23-26, Pl. II*).

Nous sommes donc en présence d'éléments d'abord binucléés<sup>(1)</sup>, dont les deux noyaux ne vont pas tarder à se fusionner. *Cette fusion de deux myxamibes, protoplasme à protoplasme et noyau à noyau, est pour nous un acte sexuel, méconnu jusqu'ici.* Il a pour conséquence la formation d'un œuf ou zygote. Le volume de la myxamibe-zygote est considérable, son noyau est volumineux, son cytoplasme est granuleux et remplace d'abondantes vacuoles. (Fig. 33, Pl. II).

*Cultures monospermes.* — Pour se rendre bien compte du caractère des spores au point de vue sexuel, c'est-à-dire pour savoir si elles possèdent le caractère (+) ou (—), et pour mieux préciser l'histoire du développement de *D. mucoroides*, nous avons entrepris une série d'expériences en vue de produire des cultures en partant d'une seule spore. Une telle entreprise est très difficile à réaliser, à cause de la petitesse des spores et aussi à cause de leur transparence qui les fait confondre facilement avec le milieu de culture. Un troisième inconvénient est que les spores baignent dans un mucus, ce qui rend difficile l'isolement d'une seule spore.

Pour *Dictyostelium mucoroides* l'opération est plus difficile encore que pour *Didymium nigripes* et demande beaucoup de patience. Nous avons mis tout d'abord la tête muqueuse d'un sporange dans quelques millimètres cubes d'eau distillée et stérilisée. En remuant ensuite fortement le tout, les spores se sont dissociées complètement.

Avec une fine pipette flambée nous avons pris un peu de cette eau contenant des spores et nous avons touché légèrement une goutte d'infusion de foin à 10 %, déposée d'avance sur une lame flambée. Cela fait, nous avons examiné au microscope le nombre des spores déposées dans la goutte. Après plusieurs opérations pareilles effectuées avec la même pipette sur plusieurs gouttes successives nous sommes arrivés à déposer, à plusieurs reprises, une seule spore. Dès lors il ne restait qu'à recouvrir la goutte contenant cette unique spore avec une petite lamelle ( $5 \times 5$  m/m) appuyée sur quatre boules de cire stérilisée; les préparations ainsi faites étaient placées dans la chambre humide qu'est une boîte de Pétri, à la température de 18°.

La spore germe au bout de quelques heures en donnant une petite myxamibe qui ne tarde pas à grandir en se nourrissant de

---

(1) Pinoy considère ces deux noyaux, chez les myxamibes arrivées à la période finale de leur vie végétative, comme provenant de la division directe du noyau primitif; mais il ne donne pas la signification de ce phénomène.

Bactéries qui ont été introduites au moment de l'ensemencement. La division survient ensuite ; elle se répète plusieurs fois (1) et la myxamibe-mère donne un grand nombre de myxamibes-filles qui se dirigent presque toutes vers le bord de la préparation. En faisant un calcul approximatif, d'après le nombre des myxamibes-filles, nous avons constaté qu'à partir de la myxamibe-mère, il se faisait au moins huit divisions successives. Celles-ci étant terminées, les myxamibes s'apprêtent à entrer dans une nouvelle phase d'évolution : un certain nombre d'entre elles se disposent deux par deux et vont ensuite se fusionner. En fixant et colorant une préparation à ce stade là, nous avons pu constater, en de nombreux points, des myxamibes disposées par paires ou en train de se fusionner. D'autres sont déjà fusionnées : on les reconnaît à leur taille deux fois plus grande que celle des myxamibes-gamètes et à ce qu'elles possèdent deux noyaux ; une troisième catégorie d'individus, plus avancés, sont les *zygotes*, où les deux noyaux sont déjà fusionnés.

Nous sommes donc une fois de plus en présence d'un acte sexuel. Les myxamibes (+) et les myxamibes (—) se fusionnent deux à deux pour donner un *œuf* ou *zygote*. Ce ne sont pas les myxamibes ordinaires, ce sont ces zygotes, sorte de grandes myxamibes uninucléées et très vacuolaires, qui vont participer à la formation du fruit.

Il est très avantageux et très instructif de faire des cultures monospermes. Nous sommes dans ce cas en présence d'éléments homogènes et peu nombreux, ce qui rend notre jugement plus sûr et nous permet de tirer des conclusions plus précises et plus véridiques.

Ultérieurement les zygotes se groupent en une masse tout d'abord ramifiée, mais qui ensuite prend la forme sphérique et c'est cette masse sphérique qui va se transformer en sporange.

Si l'on vient à éclairer avec une forte lumière la masse des zygotes qui sont en train de se grouper, on les voit se disperser immédiatement ; quelques minutes suffisent pour que toutes les myxamibes-zygotes quittent la place où elle devaient former le fruit. On obtient le même résultat en écrasant la masse de myxamibes-zygotes qui s'apprête à former un sporange ; ceux-ci se dispersent aussitôt et vont fructifier dans un autre endroit.

Mais ceci ne se produit pas, quand la masse des myxamibes-

---

(1) Toutes les fois que nous fixions une culture au moment de la période de la bipartition des myxamibes, nous avons pu constater que la plupart d'entre elles possèdent 2 noyaux, provenant de la division caryocinétique du noyau primitif.

zygotes est plus âgée, c'est-à-dire quand les ramifications formées par celles-ci se sont retirées et sont venues se fondre dans la masse. Comme ces masses sphériques se forment habituellement sur le bord même de la lamelle (c'est-à-dire à l'air), nous avons déplacé et replacé celle-ci de façon que la masse fût complètement plongée dans le liquide nutritif. En examinant à un fort grossissement, nous avons pu constater que cette masse conserve son volume et qu'aucune myxamibe ne se détache d'elle; elle paraît rester complètement homogène. Les myxamibes-zygotes qui étaient tout d'abord simplement accolées les unes contre les autres, semblent *complètement fusionnées*,

Si nous laissons cette masse en cet état, recouverte par la lamelle, elle ne tarde pas à s'avancer toute entière vers le bord de la préparation, en émettant un grand pseudopode demi-sphérique et hyalin. C'est seulement après être arrivée au bord de la préparation que cette masse se transforme en sporange.

Les auteurs qui ont étudié l'évolution de *D. mucoroides* admettent tous que la formation du sporange se fait par une simple accumulation de myxamibes ordinaires qui, en grimpant les unes sur les autres, forment une colonnette qui se transforme ensuite en sporange. Les myxamibes dernières venues formeraient, dans cette hypothèse, la tête du sporange et les autres auraient formé le pied. Cette hypothèse nous paraît inadmissible, surtout après que nous avons constaté la formation d'une masse protoplasmique *homogène*, provenant de la fusion des myxamibes-gamètes, avant la fructification. Nous assimilons cette masse protoplasmique de *D. mucoroides* au plasmode des Myxomycètes Endosporés. Malgré qu'il soit d'une courte durée, il possède les caractères d'un vrai plasmode et il se comporte comme celui-ci au moment de la fructification.

Pinoy a déjà démontré que le sporange se forme en commençant par l'intérieur de la masse. Il dit notamment : « Si l'on étudie la formation de l'appareil sporifère sur des coupes, on voit que la différenciation des cellules du pied se fait à l'intérieur de la masse formée par les myxamibes agrégées, réunies entre elles par du mucus. Elle procède du centre vers la périphérie et de la base au sommet. Ceci est très net sur les coupes faites les unes parallèlement, les autres perpendiculairement à l'axe de la masse fructifiante ».

La formation du sporange de *D. mucoroides* est tout à fait comparable à la formation du sporange de *Didymium nigripes*, comme d'ailleurs de tous les Endosporés. Chez ces derniers, nous voyons se former tout d'abord une masse conique, laquelle se rétrécit progressivement à la partie inférieure, formant ainsi

le pied composé d'une masse cellulosique continue. L'ensemble de la masse protoplasmique est refoulé vers le haut où il forme la tête du sporange. En analysant le pied de sporanges complètement mûrs de certaines espèces Myxomycètes, *Arcyria ferruginea* par ex., nous trouvons à l'intérieur de celui-ci de grandes cellules transparentes, serrées les unes contre les autres, de telle façon que l'ensemble de cette formation ressemble à un tissu. Nous admettons que ces cellules du pied sont celles qui n'ont pas pu achever leur évolution ni se transformer en spores, à la façon de la masse protoplasmique qui occupe la tête du sporange. Ces cellules restent nues, transparentes tout le long du pied. Quand le sporange vieillit et se dessèche, elles perdent leur régularité. On dirait que la partie interne du pied est tapissée d'un tissu continu. Il se passe, croyons-nous, quelque chose de pareil chez le *Dictyosporium mucoroides*.

Pinoy, en admettant la formation du pied à l'intérieur de la masse protoplasmique des myxamibes agrégées, maintient encore l'ancienne opinion de Brefeld, de Van Tieghem et d'autres, d'après qui les myxamibes glissent les unes sur les autres et grimpent vers le haut, les unes pour former le pied et les autres pour former la tête du sporange.

Cette hypothèse d'empilement des myxamibes les unes sur les autres nous paraît illusoire et invraisemblable. Les différents auteurs l'admettent à cause de la structure du pied, formé de mailles hexagonales. Mais un examen attentif nous a permis de remarquer qu'au début, dans une culture récente, toutes les cellules, celles qui forment le pied et celles qui forment la tête du sporange, possèdent toutes une forme hexagonale. Cela est facile à observer quand on fixe à la flamme une fructification récemment formée.

Mais quand le sporange vieillit, la régularité de ces mailles disparaît ; les cellules qui étaient plus ou moins hexagonales, s'allongent, leurs parois se rapprochent et l'ensemble du pied acquiert une structure fibreuse et complètement irrégulière.

Nous admettons que toutes les cellules, celles du pied et celles qui forment les spores, proviennent de la division de la masse protoplasmique en voie de fructification, comme chez *Didymium nigripes*. Les cellules d'un sporange qui achève son évolution sont hexagonales : Cette forme est gardée par les cellules du pied même quand le sporange est complètement formé : ceci provient de ce que les cellules du pied sont enfermées dans une paroi cellulosique continue, dont la présence détermine le maintien de cette structure. Comme la masse de spores n'est enclose dans aucune paroi solide, les spores acquièrent librement leur forme ovale ; et

même quand nous examinons des spores nouvellement formées, nous pouvons voir encore des traces de leur ancienne forme hexagonale.

La preuve de la division de la masse protoplasmique au moment de la fructification nous a été fournie par le fait suivant. Au cours de nos observations sur l'influence de l'humidité et de l'oxygène sur le développement de *D. mucoroides* (page 51) nous avons pu assister à la formation du sporange sous la lamelle bordée de paraffine, dans une petite bulle d'air enclose dans le liquide nutritif. C'était une occasion favorable d'observer *in vivo* et d'une façon détaillée la formation du sporange.

Or, les myxamibes-zygotes qui se sont approchées de la bulle d'air étaient au nombre de 14. Toutes, à un moment donné, se sont réunies, puis fusionnées en une seule masse qui n'a pas tardé à se transformer en un petit sporange à l'intérieur de la bulle d'air. Ce petit sporange ne pouvant se développer perpendiculairement à la lamelle, s'est formé en position complètement couchée. Nous avons démolì cette bulle d'air pour provoquer la désagrégation de la tête du petit sporange. Ceci fait, nous avons pu compter les spores qui étaient au nombre de 50. Le pied était composé de 4 cellules allongées et enveloppées par une paroi continue cellulosique. Cette observation nous autorise à admettre que chacun des noyaux des myxamibes-zygotes qui ont participé à la formation du sporange, a subi une double division, en donnant ainsi naissance à quatre nouveaux noyaux, qui deviennent les noyaux des spores définitives.

Ne faudrait-il pas comparer cet acte de multiplication des noyaux au moment de la fructification, avec la formation de tétrades chez les autres Cryptogames ? Nous nous sommes proposé, pour l'avenir, d'éclaircir ce problème très intéressant, mais en même temps très difficile à résoudre à cause de l'instabilité des éléments qui entrent en jeu et aussi à cause de l'impossibilité d'appliquer à ce stade les méthodes courantes de fixation et de coloration.

Après la formation des sporanges il reste dans le milieu de culture un grand nombre de myxamibes, au voisinage même de ces sporanges. Ce fait est instructif. Si la théorie du glissement et de l'empilement de celles-ci était vraie, avec exclusion de tout phénomène sexuel, pourquoi seraient-elles restées inactives, malgré leur vitalité parfaite ? Comme pour *Didymium nigripes*, le fait est facile à expliquer : ces myxamibes délaissées sont des myxamibes stériles où plutôt des myxamibes unisexuées qui n'ont pu trouver de partenaires pour former des zygotes, seuls éléments capables de former un fruit.

## RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

---

Au cours de nos recherches, nous avons opéré sur trois espèces différentes de Myxomycètes, représentant les trois groupes : *Didymium nigripes* (Endosporées), *Dictyostelium mucoroides* (Acrasiées), et *Ceratiomyxa fruticulosa* (Exosporées). Quant à cette dernière, nous avons été obligé d'interrompre nos recherches, car dans les conditions artificielles son évolution s'arrête à mi-chemin, sans que nous sachions pourquoi, et n'aboutit jamais à la fructification. Nous nous sommes donc contenté d'opérer seulement sur les deux premières espèces, mais nous avons obtenu avec elles d'intéressants résultats concrets.

1. Sur la question de la germination des spores, nous avons, par une série d'expériences utilisant différentes solutions sucrées, démontré que cette germination s'opère comme conséquence d'un phénomène osmotique et sans aucun concours apparent des Bactéries, celles-ci ne jouant dans la vie des Myxomycètes qu'un rôle d'aliment.

Les courbes ci-dessous (*Fig. 1*) montrent nettement l'influence de différentes solutions sucrées sur la germination des spores de *Didymium nigripes* et de *Dictyostelium mucoroides*. Sur l'axe horizontal nous avons porté les différents poids en grammes de glucose dissous dans 100 cc. d'eau distillée, et sur l'axe vertical les différents pourcentages de spores germées.

Les deux courbes nous montrent la différence de pouvoir osmotique entre les spores de *Didymium* et celles de *Dictyostelium* et les points extrêmes où les spores de ces Myxomycètes subissent la mort.

2. Au cours de leur évolution, les zoospores, myxamibes et plasmodes se nourrissent de Bactéries et les digèrent dans leurs vacuoles. Mais les Bactéries ne constituent pas l'aliment exclusif des Myxomycètes ; ceux-ci peuvent saisir et englober dans leurs vacuoles en vue de la digestion les différents corps vivants qui se trouvent accidentellement dans le milieu de culture : spores de Moisissures, Levures, etc. Nous avons vu très souvent disparaître complètement des colonies florissantes de Moisissures après le

passage d'un plasmode. Celui-ci peut même, quand les Bactéries ou d'autres corps lui font défaut, se nourrir du substratum sur lequel il vit (gélose au foin, par exemple), en dissolvant celui-ci à l'aide de diastases et en absorbant ensuite par osmose le liquide

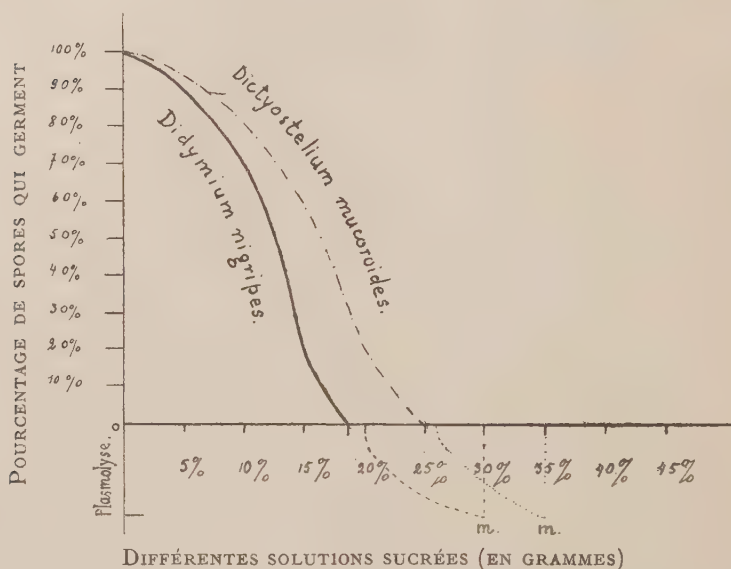


Fig. 1. — Influence de différentes solutions sucrées (glucose) sur le développement de *Didymium nigripes* et *Dictyostelium mucoroides*.

[Pour *Didymium*, la germination des spores s'arrête à 18 p. 100 (courbe continue); pour *Dictyostelium* elle s'arrête à 25 p. 100 (courbe en traits et points). Ce sont des solutions hypotoniques. Entre 18 p. 100 et 20 p. 100 pour *Didymium* et entre 25 p. 100 et 26 p. 100 pour *Dictyostelium* les solutions sont isotoniques: les spores ne germent pas mais elles ne présentent pas non plus de phénomène de plasmolyse.

Quand les solutions dépassent 20 p. 100 les spores de *Didymium* subissent la plasmolyse progressive et à 30 p. 100 elles meurent (m). Les spores de *Dictyostelium* subissent la plasmolyse quand la solution dépasse 26 p. 100. Elles meurent quand la solution atteint 35 p. 100. La plasmolyse est indiquée par la courbe qui descend au-dessous de la ligne horizontale.]

ainsi préparé. On distingue très bien dans ce cas les traces du passage d'un plasmode sur le milieu de culture.

Les myxamibes-zygotes de *Dictyostelium mucoroides* et les plasmodes de *Didymium nigripes* prennent et digèrent dans leurs vacuoles les spores non germées et mêmes les myxamibes et zoospores attardées dans leur évolution.

3. La température possède une grande influence sur la marche de développement des Myxomycètes. Cette action diffère d'une

espèce à l'autre : la germination des spores se fait plus facilement à basse température pour *Didymium nigripes* (minimum + 2°) que pour *Dictyostelium mucoroides* (minimum + 8°). Pour les hautes températures, *Didymium* les supporte moins bien (maximum + 22°) que *Dictyostelium* (maximum + 30°). La température optima pour *Didymium* est de 15° (température moyenne de la chambre); pour *Dictyostelium*, elle est de 18°

A une température de 18-20°, le plasmode de *Didymium*, au lieu d'aboutir aux fructifications normales, se transforme en sporanges possédant des formes aberrantes, masses irrégulières portées par des pieds très courts et dépourvues de croûte calcaire. En général, dans ces conditions, les sporanges se rapprochent beaucoup des formes plasmodiocarpiques de certains Myxomycètes (p. ex. *Physarum cinereum*).

*Dictyostelium mucoroides*, lui aussi, fructifie mal à haute température. Les sporanges, dans ces conditions, sont moins nombreux, leurs têtes moins volumineuses et celles-ci sont portées par des pieds manifestement plus courts que les pieds des sporanges provenant de cultures développées à 18-20°.

Nous représentons ci-dessous (fig. 2.), en graphique, l'influence de la température sur la marche du développement de ces deux Myxomycètes.

4. Nos expériences démontrent que l'oxygène est indispensable au développement des Myxomycètes. Habituellement tous les stades d'évolution, excepté la germination, se passent au voisinage de l'air. La privation d'oxygène cause la mort infaillible du Myxomycète en évolution.

Les Myxomycètes sont donc de vrais aérobies. Ce caractère aérobie est plus marqué chez *Dictyostelium mucoroides* que chez *Didymium nigripes*.

5. L'humidité trop grande, surtout si elle est accompagnée d'une haute température, empêche le développement complet de *Didymium nigripes*. Elle n'a aucune influence sur le développement de *Dictyostelium mucoroides*. Celui-ci peut même fructifier à la surface d'un milieu complètement liquide; dans ce cas là, les myxamibes remontent en haut du liquide et utilisent la couche formée par les Bactéries comme base de leur fructification.

6. La lumière exerce une influence négative seulement sur les premiers stades de développement. Elle ne manifeste aucune influence sur les stades finaux, ni chez *Didymium nigripes*, ni chez *Dictyostelium mucoroides*.

Les caryocinèses se font exclusivement dans l'obscurité complète et naturelle.

7. Nous avons démontré que, chez les deux espèces de Myxo-

mycètes étudiés par nous, s'observe une reproduction sexuée, par fusion de deux myxamibes sexuellement différents. Mais les cultures monospermes nous ont amené à constater qu'à partir d'une spore unique on peut obtenir le développement complet de l'espèce; on en doit conclure que les spores d'une même espèce sont toutes

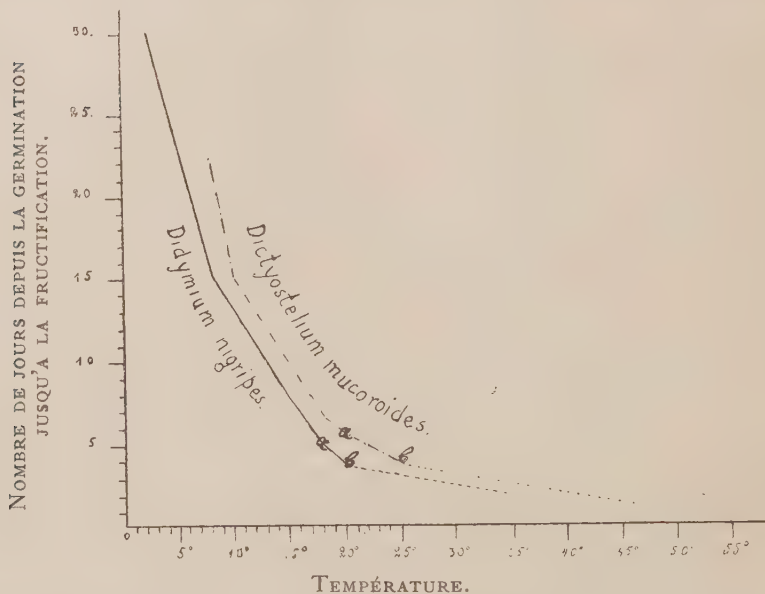


Fig. 2. — Influence de la température sur le développement de *Didymium nigripes* et de *Dictyostelium mucoroides*.

[Pour *Didymium* (courbe continue) le développement est normal jusqu'à 18°; entre 18 et 20° (a-b) il se forme des masses informes ou sclérotées; au dessus de 20° il n'y a plus de fructification du tout. La ligne en pointillés indique précisément l'influence morbide des hautes températures sur l'évolution de ce Myxomycète.

Une chose identique se passe aussi avec *Dictyostelium*. Jusqu'à 20° l'évolution est normale; entre 20 et 25° (a-b) il y a formation de sporanges presque dépourvus de pieds. Ensuite la ligne pointillée indique une descente progressive vers la mort qui a lieu à 55°.]

semblables entre elles, que chacune possède en substance la double potentialité sexuelle et qu'en un mot chaque spore est, en puissance, bisexuée.

Voici comment, en fait, les choses se passent.

a) *Didymium*. — Une spore de *Didymium nigripes* en germant donne une masse protoplasmique presque sphérique, qui ne tarde pas à se transformer en une zoospore. Celle-ci se divise plusieurs fois par le procédé caryocinétique. Les zoospores-filles se transforment lentement en myxamibes qui à leur tour continuent à se diviser

caryocinétiquement (nous n'avons jamais observé de division directe des noyaux).

Il faut admettre que c'est au cours de ces divisions que se fait la séparation sexuelle, car une myxamibe isolée de ces divisions tardives et transportée dans un nouveau milieu frais continue à évoluer en se divisant encore pendant un certain temps, mais les myxamibes-filles auxquelles elle donne naissance s'arrondissent, jaunissent et finalement sont détruites par les Bactéries, sans jamais aboutir à la fructification: la myxamibe initiale était donc unisexuée.

A partir de la séparation des sexes, les myxamibes-gamètes, devenues myxamibes (+) et myxamibes (—), se fusionnent à un moment donné protoplasme à protoplasme et noyau à noyau et fournissent ainsi un œuf ou *zygote*. Un zygote est caractérisé par les traits suivants: la masse protoplasmique devient très vacuolaire et elle acquiert des mouvements rythmiques de va-et-vient. Le point le plus caractéristique d'un zygote est la masse différenciée de protoplasme qui forme *un cercle fermé autour du noyau*. Cette masse protoplasmique différenciée est très granuleuse et se colore en vert très foncé par le vert-lumière (le reste du protoplasme se colore en vert clair.) Cette particularité permet de distinguer très facilement un zygote d'une myxamibe ordinaire, le noyau de celle-ci étant renfermé dans un vacuole nucléaire qui ne prend aucune coloration.

Le noyau de l'œuf se divise par caryocinèse et le zygote se transforme petit à petit en un plasmode plurinucléaire qui, lui-même, va se transformer finalement en sporanges.

b) *Dictyostelium*. — Une spore de *Dictyostelium mucoroides*, en germant, donne directement une myxamibe uninucléaire qui se met immédiatement en mouvement à l'aide de ses pseudopodes.

Il n'y a jamais de zoospores chez le *D. mucoroides*.

Une myxamibe subit environ huit divisions consécutives qui se font par le procédé caryocinétique. Tout en se divisant, les myxamibes se dirigent vers la périphérie de la préparation, où se passent les derniers stades de l'évolution.

Quand le moment de la copulation approche, les noyaux des myxamibes présentent des phénomènes particuliers: de la masse du noyau se détachent de petits corpuscules qui se disséminent dans le protoplasme et finalement disparaissent. Le noyau ainsi purifié (?) possède la forme d'une demi-lune. C'est peut-être là le processus qui différencie les uns des autres les noyaux (+) et les noyaux (—)

Deux myxamibes gamètes (+) et (—) se rapprochent, se fusionnent protoplasme à protoplasme et noyau à noyau, et forment ainsi un œuf ou *zygote*. Les zygotes se reconnaissent facilement

aux particularités suivantes: leur noyau est très volumineux et souvent de forme irrégulière; leur protoplasme est granuleux et très vacuolaire.

Les zygotes se rassemblent sur le bord de la préparation (au contact de l'air) et se fusionnent en formant ainsi un plasmode qui est d'une courte durée. Ce plasmode se transforme ensuite en un seul sporange, rarement deux. Nos observations nous ont permis en outre de supposer que chaque noyau d'un plasmode en voie de fructification se divise en 4 parties, fournissant ainsi 4 noyaux-fils qui sont les noyaux définitifs des spores. Ce phénomène serait comparable à la formation des tétrades chez les autres Cryptogames.

En somme les spores de *D. mucoroides* et les cellules de son pied proviennent de la division de toute la masse plasmodique et non pas d'une sorte d'empilement des myxamibes restés distincts, comme on l'a décrit jusqu'ici.

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

1. BARY (DE). Die Mycetozoen, *Monographie*, 1864.
2. BARY (DE). Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bakterien, Leipzig, 1884, « *Bau und Entwickel. der Myxom.* ».
3. BAMBECKE. Contribution pour servir à l'histoire de *Lycogala flavo fuscum*, *Mém. Cl. d. Sc. Ac. Roy. Belgique*, 2, 8, III, p. 3-32, 1912.
4. BISBY (G. R.). Some observations on the formation of the capillitium and the developpement of *Physarella mirabilis* and *Stemonitis fusca*. *Amer. Journ. Bot.*, I, p. 274-288.
5. BREFELD. Dictyostelium mucoroides, ein neuer Organismus aus Verwandtschaft der Myxomyceten, *Nat. Gesellsch.* Bd. VII, 1869.
6. BREFELD. Polysphondylium violaceum und Dictyostelium mucoroides. Botanische Untersuchungen über Myxomyceten und Entomophthoren. 1864.
7. BRÜCK. Beiträge zur Physiologie der Mycetozoen. *Zeitschr., für allgem. Physiol.* VII, p. 506-556. 1908.
8. CELAKOWSKI. Ueber die Aufnahme lebender und todter verdaulicher Körper in die Plasmodium der Myxomyceten. *Flora*, Bd. LXXVI, 1892.
9. CELAKOWSKI. Ueber das Vorkommen von oxalsauern Kalke bei höheren Myxomyceten. *Sitzungber. kgl. böhmisch. Ges. Wiss.*, 24, I. Opp. 1910.
10. CIENKOWSKI. Zur Entwicklungsgeschichte der Myxomyceten. Das Plasmodium. *Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot.* III, p. 325 et p. 400.
11. CONARD (H. S.). Spore formation in *Lycogala exiguum* Morg. *Proc. Iowa Ac. Sc.*, XVII, p. 83. 1910.
12. CONSTANTINEANU. Ueber die Entwicklungsbedingungen der Myxomyceten. *Annales Mycologici. Vierter Jahrgang*, 1906. Berlin. p. 495
13. DANGEARD (P. A.). Contribution à l'étude des Acrasiées, *Le Botaniste*, 5<sup>e</sup> série, p. 1-30.
14. DANGEARD (P. A.). Etude de la caryocinèse chez *Amoeba hyalina*. *Le Botaniste*, 7<sup>e</sup> série, p. 49-82.
- 14 bis. DOFLEIN (F.). Lehrbuch der Protozoenkunde, Iéna, 1909.
15. ENGELKE. Eine abweichende Form der *Fuligo varians* Sommerf. *Bot. Abt. Nat. Ges. Hannover*, 1910.
16. ENSCH. Notes sur les Myxomycètes. *Travaux du Labor. de Wimeux*, t. VII, 1899.
17. FREE (E.). Powdre ser., *Nature*, 2140, p. 6. 1910.
18. FRY (E.). The Mycetozoa and some questions wich they suggest. 1899.

19. FERDINANDSEN and WINGE. *Ostenfeldiella*, a new genus of *Plasmodiophora*. *Ann. of Bot.*, XXVIII, p. 643-649. 1914.
20. FORTI (A.). Diagnoses *Myxophycearum novarum*. *Atti Acc. Agric. Verona*, 4, XII, 5 pp. 1 t.
- 20 bis. FRIES (E.). *Systema mycologicum*, 1821.
21. HILTON. The life-phases of *Myxom*. *Journ. Quekett Micr. Club*, 2, XI. 64. p. 55-60. 1910.
22. HILTON. On the cause of reversing currents in the plasmodia of *Mycetozoa*. *Journ. Quek. Microsc. Club*, ser. 2, X, p. 263, nov. 1908.
23. HILTON. Notes on the cultivation of Plasmodia of *Badhamia utricularis*. *Journ. Quekett Micr. Club*, 2, XII, p. 381. 1914.
24. HOWARD AYERS. Colorants intravitaux du plasmodium des *Myxomycètes*. *Jour. of Applied Microscopy*, Vol. 2, p. 2.
25. HARPER and DODGE. The formation of capillitium in certain *Myxom*. *Annals Bot.*, XXVIII, p. 1-18. 1914. *Centralblatt* 126, p. 219. 1914.
26. HARPER (R. A.). Cleavage in *Didymium melanospermum* (Pers.) *American Journal of Botany*. Vol. 1, No 33. 1914.
27. HARPER (R. A.). Sexual reproduction and the organisation of the nucl. in certain mildews. *Carnegie institution of Washington Publication*, No 37. 1905.
28. JAHN. *Myxomycetenstudien*: I. *Dictydium umbilicatum* Schrader. *Berichte der deutsch. bot. Gesellsch.*, XIX. Berlin, 1901. p. 97.
29. JAHN. *Myxomycetenstudien*: VII *Ceratiomyxa*. *Ber. der deutsch. bot. Ges.*, XXVIa. Berlin 1908 p. 342. Résumé dans *Botanisch. Centralblatt* 108. p. 528.
30. JAHN. *Myxomycetenstudien*: III. Kernteilung und Geisselbildung bei den Schwärmern von *Stemonitis flaccida* Lister. (d° XXII.) 1904. p. 84.
31. JAHN. *Myxomycetenstudien*: VIII. Der Sexualakt. (d° XXIX.) 1914. p. 231.
32. JAHN. *Myxomycetenstudien*: IV Die Keimung der Sporen. (d° XXIII.) 1905. p. 489.
33. JAHN. *Myxomycetenstudien*: VI. Kernverschmelzungen und Reduktionsteilungen. (d° XXV.) 1907. p. 23.
34. KUSANŌ (S.). Phobo-Chemiotaxis of the swarm-spores of *Myxomycetes*. *The botanical Magazine*, Vol. XXI. No 250. p. 143-153. Tokyo. 1907.
35. KUSANŌ (S.). Studies on the chemotaxis and other related reaction of the swarm-spores of *Myxom*. *Journ. Coll. Agric. imp. Univ.* II. 1. p. 1-83. Tokyo.
- 35 bis. LE DANTEC (F.). Recherches sur la digestion intracellulaire chez les Protozoaires. *Annales de l'Inst. Pasteur*, t. IV, 1890, p. 776.
36. LÉGER (L.). Un nouveau *Myxomycète*, endoparasite des Insectes. *C. R. Ac. Sc. Paris*, Tome CXLV, p. 837. 11 Nov. 1907.
37. LISTER (A.). Notes on the plasmodie of *Badhamia utricularis* and *Brefeldia maxima*. *Annals of Botany*, II. p. 1. 1888.
38. LISTER (A.). On the division of nuclei in the *Mycetozoa*. *Linnean Society's Journal*, 29, p. 529. 1893.
39. LISTER (A.). On the cultivation of *Mycetozoa* from spores. *Journ. of Botany*. 1901.
- 39 bis. LISTER (G.). A monograph of the *Mycetozoa*. London 1911.

40. MATRUCHOT (L.). Sur une structure particulière du protoplasma chez une Mucorinée, et sur une propriété générale des pigments bactériens et fongiques. *Miscellanées biologiques. Travaux du laboratoire de Wimereux-Ambleteuse*, 1899. 1 planche.
41. MINATAKA (K.). Couleurs of Plasmodia of some Mycetozoa. *Nature*.
42. MOUTON. Recherches sur la nutrition des Amibes et sur leur diastase intracellulaire. *Ann. de l'Inst. Past.* t. XVI. 1902.
43. NADSON. Des cultures de Dictyostelium mucoroides et des cultures des Amibes en général. *Scriptorium botanica*, fasc. XV. Petrograde 1899.
44. OLIVE. Monograph of the Acrasieae. *Mem. nat. hist. Soc. Boston*. 1907.
45. PINOY (E.). Sur l'existence d'un dimorphisme sexuel chez un Myxomycète, Didymium nigripes. *C. R. Soc. Biol. Paris*. LXIV, p. 630. 1908.
46. PINOY (E.). Nécessité de la présence d'une Bactérie pour obtenir la culture des Myxomycètes. *Bull. Soc. mycologique de France* t. XVIII, 3<sup>e</sup> fasc., 1902.
47. PINOY (E.). Nécessité d'une symbiose microbienne pour obtenir la culture des Myxomycètes. *C. R. Ac. Sc. Paris*. t. CXXXVII. 1903.
48. PINOY (E.). Rôle des Bactéries dans le développement de certains Myxomycètes. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris. T. XXI. p. 686. *Idem* dans la Thèse prés. à la Fac. des Sciences de Paris en 1907.
49. PINOY (E.). Nutrition et coloration des Myxomycètes. *C. R. Soc. Biol. Paris*. LXXVIII. p. 172-174. 1915.
50. POTTS (G.). Zur Physiologie des Dictyostelium mucoroides. *Thèse*. Halle-Wittenberg. 1902.
51. ROSTAFIŃSKI. *Śluzowce*. (Myxomycètes). Paris. 1875.
52. SCHRÖTER (J.). Myxomycètes. *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, I, Leipzig. 1897.
- 52 bis. SCHRADER. Nova plantarum genera cum tab. VI, Lipsiae, 1797. Analysé dans « *Śluzowce* » de Rostafinski, voy. [51].
53. SKUPIEŃSKI (F. -X.). Sur la sexualité chez les Champignons Myxomycètes. *C. R. Ac. Sc. de Paris*. T. 165. p. 118, 16 juillet 1917.
54. SKUPIEŃSKI (F. -X.). Sur la sexualité chez les Champignons Myxomycètes. *C. R. Ac. Sc. de Paris*. T. 167. p. 31, 1<sup>er</sup> juillet 1918.
55. SKUPIEŃSKI (F. -X.). Sur la sexualité chez une espèce de Myxom. Acrasiés, Dictyostelium mucoroides. *C. R. Ac. Sc. Paris*. T. 167. p. 960.
56. SKUPIEŃSKI (F. -X.). Influence du milieu nutritif sur le dével. des Champignons Myxomycètes. *Société de Biol. Paris*. 1919.
57. TORREND (G.). Flore des Myxomycètes. St. Fiel. (Portugal). 1901.
58. VAN TIEGHEM. Sur quelques Myxomycètes à plasmode agrégé. *Bull. Soc. Bot. de France*. T. XXVII. p. 317. 1880.
59. P. VUILLEMIN. Une Acrasiée bactériophage. *C. R. Ac. Sc. Paris*, Vol. 137. p. 387.



## EXPLICATION DES PLANCHES

---

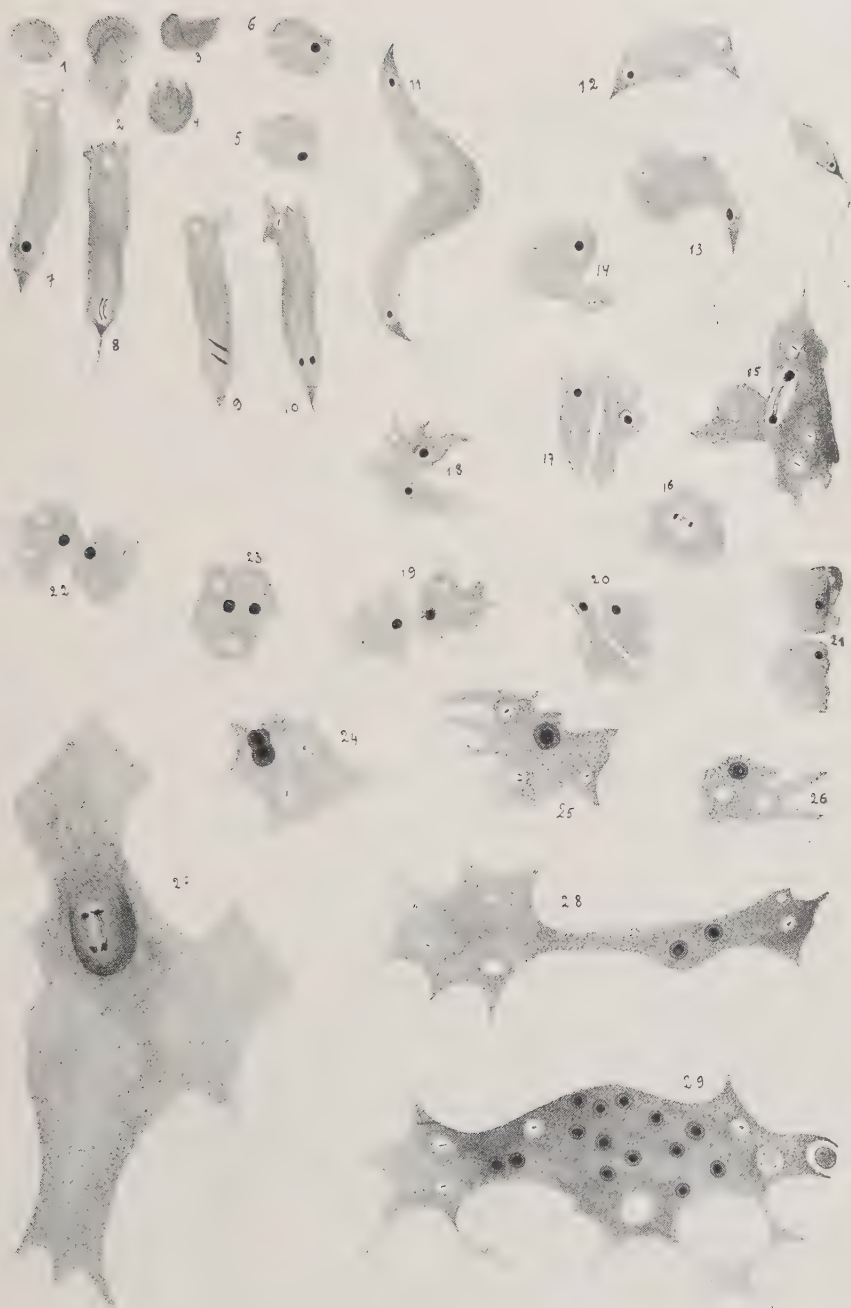
### PLANCHE I.

#### ÉVOLUTION DE *Didymium nigripes*.

- Fig. 1. — Une spore non germée.
- “ 2. — La germination d'une spore.
- “ 3 et 4. — Différents modes de déhiscence de la paroi d'une spore au moment de la germination
- “ 5. — La masse protoplasmique après sa sortie de la paroi d'une spore.
- “ 6. — Le commencement de la formation du cil vibratile.
- “ 7. — Une zoospore complètement formée.
- “ 8, 9, 10 11, et 12. — Différents stades de division d'une zoospore.
- “ 13. — Une zoospore qui est en train de se transformer en myxamibe.
- “ 14. — Une myxamibe.
- “ 15 et 16. — La division caryocinétique d'une myxamibe; dans les vacuoles il y a des Bactéries en voie de digestion.
- “ 17 et 18. — Les stades finaux de la division des myxamibes.
- “ 19, 20 et 21. — Accouplement de deux myxamibes-gamètes, l'une (+) et l'autre (—).
- “ 22. — Le commencement de la fusion de deux myxamibes-gamètes.
- “ 23. — Deux myxamibes-gamètes sont déjà fusionnées mais leurs noyaux sont encore libres.
- “ 24. — La fusion de deux noyaux et le commencement d'un œuf ou zygote. Il se forme autour des deux noyaux en fusion une zone caractéristique plus foncée que le reste du protoplasme et propre aux zygotes.
- “ 25 et 26. — Deux formes différentes de zygote.
- “ 27. — La division caryocinétique du noyau d'un zygote.
- “ 28. — Un jeune plasmode à deux noyaux provenant de la division du noyau du zygote. Ces deux noyaux conservent toujours la zone différenciée et plus foncée.
- “ 29. — Un plasmode plus avancé: on voit déjà plusieurs noyaux et dans les vacuoles il y a des Bactéries en voie de digestion; dans une de ces vacuoles on voit une myxamibe en voie de digestion.
-

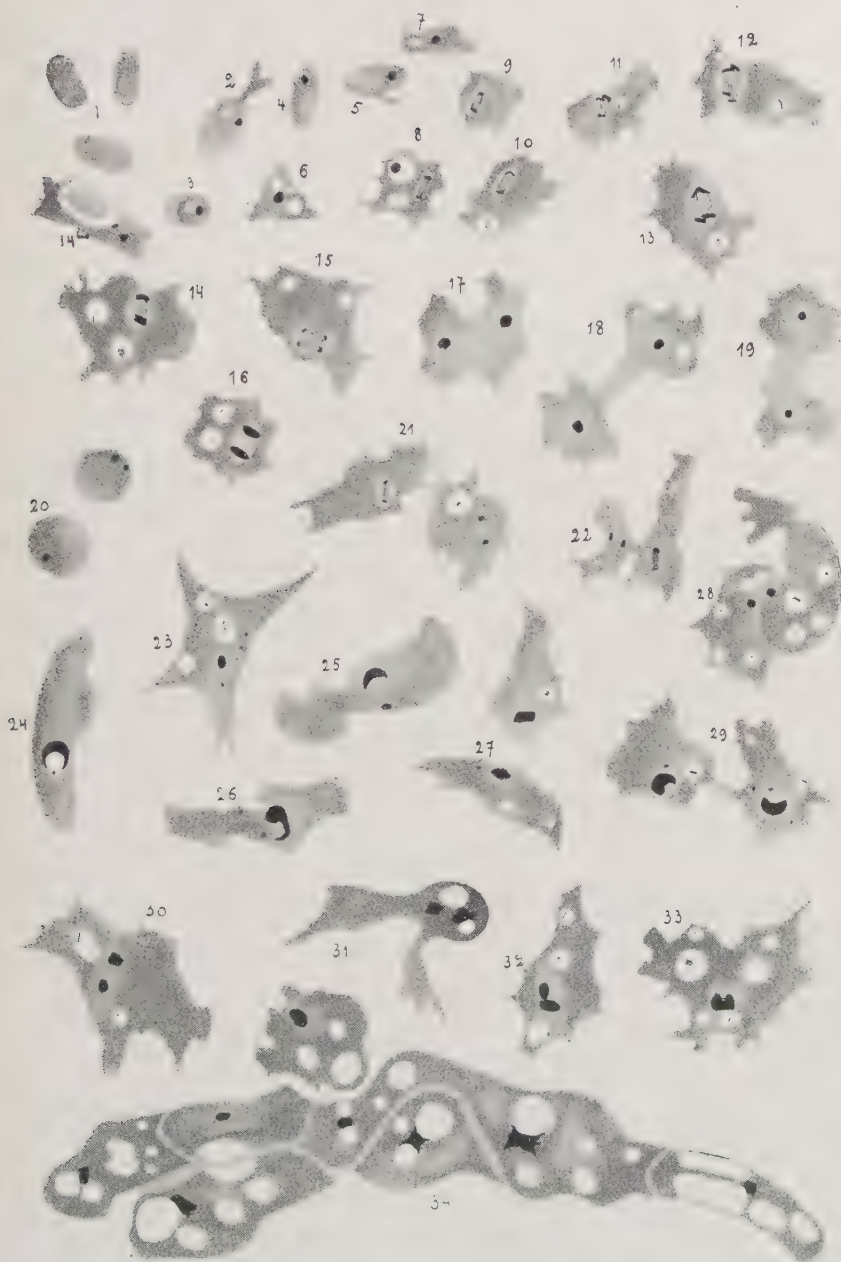


PLANCHE I.





# PLANCHE II





## PLANCHE II.

### ÉVOLUTION DE *Dictyostelium mucoroides*.

Fig. 1. — Spores de *D. mucoroides*.

- “ 2 et 3. — Germination de spores.
  - “ 4, 5, 6 et 7. — Différentes formes de myxamibes.
  - “ 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 et 15. — Différentes formes de la division caryocinétique des myxamibes: on distingue bien les 4 chromosomes et les fuseaux achromatiques. Dans les vacuoles il y a des Bactéries en voie de digestion.
  - “ 16. — Une myxamibe dont le noyau vient d'achever sa division caryocinétique.
  - “ 17, 18, 19 et 20. — Différents modes de division des Myxamibes: chaque moitié de la masse protoplasmique entraîne un noyau-fils.
  - “ 21 et 22. — Nouvelles divisions de noyaux de myxamibes. Chaque moitié de la masse protoplasmique entraîne un noyau-fils.
  - “ 23, 24, 25 et 26. — Des myxamibes subissant l'épuration<sup>(1)</sup>: les noyaux (en forme de lune) expulsent de petits corpuscules chromatiques qui se disséminent dans la masse protoplasmique et y disparaissent petit à petit.
  - “ 27. — Deux myxamibes-gamètes se rapprochent.
  - “ 28 et 29. — Accouplement de deux myxamibes-gamètes et commencement de leur fusion.
  - “ 30, 31 et 32. — Début de la formation d'un zygote: les deux noyaux provenant de deux myxamibes-gamètes fusionnées sont en train de se fusionner.
  - “ 33. — Un zygote. Les deux noyaux sont presque fusionnés.
  - “ 34. — Rassemblement de zygotes uninucléaires pour former un plasmode.
-



2<sup>me</sup> THÈSE

## Propositions données par la Faculté

---

### QUESTION DE PHYSIOLOGIE

Intervention des micro-organismes dans les phénomènes digestifs.

### QUESTION DE GÉOLOGIE

Formation de la houille et flore houillère.

Vu et approuvé

Le Doyen de la Faculté des Sciences

F. HOUSSAY

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

APPELL

---





